การให้อาหารที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดง (*Rhynchocinetes durbanensis*; Gordon, 1936) ด้วยอาหารมีชีวิต และอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด และระยะเวลาในการลงเกาะของลูกกุ้งมดแดง

ศิริวรรณ ชูศรี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวาริชศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
2565
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

การให้อาหารที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดง (*Rhynchocinetes durbanensis*; Gordon, 1936) ด้วยอาหารมีชีวิต และอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด และระยะเวลาในการลงเกาะของลูกกุ้งมดแดง

ศิริวรรณ ชูศรี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวาริชศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
2565
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

OPTIMIZATION FEEDING REGIMES OF DANCING SHRIMP (*RHYNCHOCINETES DURBANENSIS*; GORDON, 1936) WITH LIVE FOOD AND MICROENCAPSULATED DIET ON GROWTH, SURVIVAL RATE AND SETTLEMENT RATE

SIRIWAN CHOOSRI

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENTS FOR MASTER DEGREE OF SCIENCE

IN AQUATIC SCIENCE

FACULTY OF SCIENCE

BURAPHA UNIVERSITY

2022

COPYRIGHT OF BURAPHA UNIVERSITY

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของ ศิริวรรณ ชูศรี ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์	คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	
....	.... ประธาน
(ดร.วิชญา กันบัว)	(รองศาสตราจารย์ ดร.บัณฑิต ยวงสร้อย)
	.... กรรมการ
	(ดร.วิชญา กันบัว)
	.... กรรมการ
	(รองศาสตราจารย์ ดร.วิภูษิต มัณฑะจิตร)

.... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร. อุษาวดี ตันติวรานุรักษ์)

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

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพา

.... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.นุจรี ไชยมงคล)

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

62910235: สาขาวิชา: วาริชศาสตร์; วท.ม. (วาริชศาสตร์)
คำสำคัญ: กุ้งมดแดง (Rhynchocinetes durbanensis (Gordon, 1936))/ อาร์ทีเมีย/ อาหารไมโครเอนแคปซูลเลท/ อัตรารอด/ กิจกรรมของเอนไซม์

ศิริวรรณ ชูศรี : การให้อาหารที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดง (*Rhynchocinetes durbanensis*; Gordon, 1936) ด้วยอาหารมีชีวิต และอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด และระยะเวลาในการลงเกาะของลูกกุ้งมดแดง . (OPTIMIZATION FEEDING REGIMES OF DANCING SHRIMP (*RHYNCHOCINETES DURBANENSIS*; GORDON, 1936) WITH LIVE FOOD AND MICROENCAPSULATED DIET ON GROWTH, SURVIVAL RATE AND SETTLEMENT RATE) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: วิชญา กันบัว, ปร.ด. ปี พ.ศ. 2565.

การวิจัยนี้ เป็นการศึกษาชนิดของอาหารและการให้อาหารที่เหมาะสม (อาร์ทีเมียแรกฟัก (Newly hatching *Artemia* sp.), อาหารไมโครเอนแคปซูลเลท (Microencapsulated diet)) ในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดง *Rhynchocinetes durbanensis* (Gordon, 1936) ที่มีผลต่ออัตรารอด การเจริญเติบโต ระยะเวลาในการลงเกาะ รวมถึงศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีน และกิจกรรมของเอนไซม์ในการย่อยอาหารของลูกกุ้งมดแดง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) มี 4 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 อนุบาลด้วยอาร์ทีเมียแรกฟัก ชุดการทดลองที่ 2 อนุบาลด้วยอาร์ทีเมียแรกฟักเป็นเวลา 18 วัน และเริ่มให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทวันที่ 15 ชุดการทดลองที่ 3 อนุบาลด้วยอาร์ทีเมียแรกฟักร่วมกับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท และชุดการทดลองที่ 4 อนุบาลด้วยอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ทำการทดลองภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ ในถังอนุบาลขนาด 10 ลิตร ที่ความหนาแน่นลูกกุ้ง 3 ตัวต่อลิตร การทดลองเริ่มตั้งแต่ลูกกุ้งแรกฟักจนถึงระยะลงเกาะ ผลการศึกษาพบว่าลูกกุ้งที่อนุบาลด้วยอาหารชุดการทดลองที่ 3 มีอัตรารอดสูงสุด (31.11±5.8 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 4 (21.11±2.0, 2.22±0.6 และ 0.00± 0.0 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ ($p<0.05$) ชุดการทดลองที่ 1 และ 3 มีการเจริญเติบโตด้านความยาวทั้งหมด (Total Length) มากที่สุด (14.82±0.85, 14.30±1.11 มิลลิเมตร) รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 2 และ 4 (8.90±2.31, 0.00± 0.0 มิลลิเมตร) ตามลำดับ ($p<0.05$) กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส เอนไซม์ทริปซิน และเอนไซม์ไคโมทริปซิน มีค่ากิจกรรมเฉลี่ยในชุดการทดลองที่ 3 (0.73±0.004 Unit/hr/mg protein, 0.87±0.01 umol *p*-Nitroaniline/hr/mg protein, 0.10±0.02 umol *p*-Nitroaniline/hr/mg protein) สูงกว่าชุดการทดลองที่ 1 (0.59±0.00 Unit/hr/mg protein, 0.22±0.01 umol *p*-Nitroaniline/hr/mg protein, 0.04±0.01 umol *p*-Nitroaniline/hr/mg protein) และประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทมีค่า 4,674.47 mMol - Dl - Alanine/g feed/Trysin act จากการศึกษาพบว่า ลูกกุ้งมีการยอมรับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท และสามารถนำมาใช้ร่วมกับอาหารมีชีวิตสำหรับอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อนได้

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอาหารที่เหมาะสมต่อการอนุบาลลูกกุ้งมดแดง คือ อาร์ทีเมียแรกฟักร่วมกับการให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ซึ่งส่งผลให้มีอัตรารอด และมีความยาวทั้งหมดสูงสุด อีกทั้งยังสอดคล้องกับกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส เอนไซม์ทริปซิน และเอนไซม์ไคโมทริปซิน ที่พบแนวโน้มสูงกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ เช่นกัน

62910235: MAJOR: AQUATIC SCIENCE; M.Sc. (AQUATIC SCIENCE)

KEYWORDS: DANCING SHRIMP (RHYNCHOCINETES DURBANENSIS GORDON 1936)/ ARTEMIA SP./ MICROENCAPSULATED DIETXSURVIVAL RATE/ ENZYME ACTIVITIES

SIRIWAN CHOOSRI : OPTIMIZATION FEEDING REGIMES OF DANCING SHRIMP (*RHYNCHOCINETES DURBANENSIS*; GORDON, 1936) WITH LIVE FOOD AND MICROENCAPSULATED DIET ON GROWTH, SURVIVAL RATE AND SETTLEMENT RATE. ADVISORY COMMITTEE: VICHAYA GUNBUA, Ph.D. 2022.

This research aimed to investigate the food types and optimized feeding (Newly hatching *Artemia* sp., Microencapsulated diet (MED)) for nursery of dancing shrimp larvae (*Rhynchocinetes durbanensis* Gordon, 1936). The survival, growth and settlement rate as well as the study of *in vitro* protein digestibility and enzyme activities of the larvae shrimp were also studied. The completely randomized design (CRD) was applied in the experiment with 4 treatments in triplicates. The treatments included the newly hatched *Artemia* sp. (treatment 1), newly hatched *Artemia* sp. was fed to larvae for 18 days and MED was added after day 15 onwards (treatment 2), newly hatched *Artemia* sp. with MED (treatment 3) and only MED (treatment 4), respectively. All treatments were carried out in 10 L tanks at a density of 3 shrimps/L under the laboratory conditions. The experiment initiated since the first day of dancing shrimps hatched until they were settlement. The results showed that the larvae in the treatment 3 had the highest survival rate (31.11±5.8%) followed by treatments 1, 2 and 4 (21.11±2.0, 2.22±0.6 and 0.00± 0.0%) (p<0.05), respectively. The high growth lengths (14.82±0.85, 14.30±1.11 mm.) were found in treatment 1 and 3, followed by treatments 2 and 4 (8.90±2.31, 0.0± 0.0 mm.) (p<0.05), respectively. Enzyme activities of protease, trypsin and chymotrypsin indicated that the larvae in treatment 3 (0.73±0.004 Unit/hr/mg protein, 0.87±0.01 umol *p*-Nitroaniline/hr/mg protein, 0.10±0.02 umol *p*-Nitroaniline/hr/mg protein) higher than in treatment 1 (0.59±0.00 Unit/hr/mg protein, 0.22±0.01 umol *p*-Nitroaniline/hr/mg protein, 0.04±0.01 umol *p*-Nitroaniline/hr/mg protein). For *in vitro* protein digestibility of MED was 4,674.47 mMol - Dl - Alanine/g feed/Trysin act. All results confirmed that the microencapsulated diet was accepted by the larvae and could be combined with live food for larvae shrimp feeding.

The results of this study suggested that the optimized feeding for *R. durbanensis* was the newly hatched *Artemia* sp. with MED (treatment 3) which led to the higher in survival rate and total length including the enzyme activities of protease, trypsin and chymotrypsin than other treatments.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ด้วยความกรุณาอย่างสูงจากหน่วยงานให้ทุน และอนุญาตให้ลาศึกษาต่อจากสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา รวมถึงการได้รับทุนสนับสนุนการทำวิจัย จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา

ขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร.วิชญา กันบัว ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ผู้ทรงคุณวุฒิ รศ.ดร.บัณฑิต ยวงสร้อย ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น รวมถึงบุคลากรในหน่วยงานมหาวิทยาลัยบูรพา และมหาวิทยาลัยขอนแก่นทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์คำปรึกษาวิชาการ คำแนะนำ แก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ ตลอดจนการประสานงานดำเนินการต่าง ๆ ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

การให้ความช่วยเหลือจากภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่กรุณาให้ความรู้และความอนุเคราะห์ขั้นตอนการทำวิจัยในครั้งนี้ด้วยความทุ่มเทและตั้งใจจริง ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

อนึ่งข้าพเจ้าหวังเป็นอย่างยิ่งว่าองค์ความรู้ที่ได้จากวิทยานิพนธ์นี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้สนใจได้นำไปปรับใช้ต่อไป ข้าพเจ้ายินดีให้คำปรึกษาและรับฟังคำแนะนำจากทุกท่าน เพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนางานวิจัยในอนาคต และขอมอบความดีนี้แด่อาจารย์ บุพการี ผู้มีพระคุณทุกท่าน ไว้ ณ โอกาสนี้

ศิริวรรณ ชูศรี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ....ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .... จ

กิตติกรรมประกาศ... ฉ

สารบัญ .... ช

สารบัญตาราง ....ฌ

สารบัญภาพ .... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย...3

สมมติฐานของการวิจัย...3

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย..4

ขอบเขตของการวิจัย 4

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5

กุ้งมดแดง *Rhynchocinetes durbanensis* (Gordon, 1936) 5

อาหารและความต้องการสารอาหารในกุ้ง 15

ประเภทอาหารขนาดเล็ก...21

ไมโครเอนแคปซูเลชัน..27

กระบวนการผลิตไมโครเอนแคปซูเลชันแบบต่าง ๆ..31

บทบาทของไมโครเอนแคปซูเลชัน และการประยุกต์ใช้ในด้านต่าง ๆ 37

กรณีศึกษาการประยุกต์ใช้ไมโครเอนแคปซูเลชันในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ...............................41

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย..48

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี..48
2. วิธีดำเนินการทดลอง...49
3. สถานที่ทำการทดลอง...57
4. ระยะเวลาการดำเนินงานวิจัย...57
บทที่ 4 ผลการวิจัย...58
1. การเตรียมอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทสำหรับการทดลองอนุบาลลูกกุ้งมดแดง.................58
2. การศึกษาการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยอาหารธรรมชาติและอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ในรูปแบบการให้ที่แตกต่างกัน...63
3. การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์จากลูกกุ้งมดแดง..70
บทที่ 5 วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย..73
วิจารณ์ผลการวิจัย...73
สรุปผลการวิจัย...84
ข้อเสนอแนะ...85
บรรณานุกรม...86
ภาคผนวก..97
ภาคผนวก ก...98
ภาคผนวก ข...102
ประวัติย่อของผู้วิจัย..109

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ตัวอย่างความต้องการสารอาหารต่าง ๆ ในกุ้งแต่ละระยะ 16

ตารางที่ 2 ระดับโปรตีนที่ใช้ในสูตรอาหารสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนและระยะ juveniles............18

ตารางที่ 3 ระดับไขมันที่ใช้ในสูตรอาหารสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนและระยะ juveniles............19

ตารางที่ 4 ความต้องการวิตามินพื้นฐาน 20

ตารางที่ 5 องค์ประกอบของวัตถุดิบที่เป็นส่วนผสมของอาหารที่ใช้ในการทดลอง 23

ตารางที่ 6 ชนิดของอาหารที่นำมาใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน............25

ตารางที่ 7 ชนิดของสารหุ้ม เพื่อใช้ในการเคลือบสารแก่น ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติ............30

ตารางที่ 8 แสดงส่วนผสมของอาหาร Microdiet ตามสูตรต่าง ๆ ที่กำหนด............43

ตารางที่ 9 องค์ประกอบส่วนผสมในอาหารไมโครเอนแคปซูล 44

ตารางที่ 10 องค์ประกอบส่วนผสม (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) ของอาหาร MBD ที่ใช้ในการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกราม 47

ตารางที่ 11 องค์ประกอบส่วนผสมของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท 49

ตารางที่ 12 ชนิดและปริมาณวัตถุดิบที่เป็นส่วนผสมของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท สำหรับการทดลองเลี้ยงอนุบาลลูกกุ้งมดแดง R. durbanensis............50

ตารางที่ 13 พารามิเตอร์การตรวจวัดคุณภาพน้ำ หน่วย และวิธีวิเคราะห์ระหว่างการทดลอง 54

ตารางที่ 14 ขนาดอนุภาคของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทหลังจากคืนสภาพที่เวลาต่าง ๆ 61

ตารางที่ 15 ข้อมูลทางโภชนาการของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท............61

ตารางที่ 16 ปริมาณโปรตีนละลายได้ในอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่เวลาต่าง ๆ 62

ตารางที่ 17 อัตรารอดของลูกกุ้งมดแดงที่อนุบาลด้วยอาหารมีชีวิตและอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่เวลา 4 สัปดาห์ 64

ตารางที่ 18 คุณภาพน้ำระหว่างการทดลองเปรียบเทียบชนิดอาหารมีชีวิต กับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงที่เวลา 4 สัปดาห์ 64

ตารางที่ 19 อัตรารอดของลูกกุ้งมดแดงที่อนุบาลด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกันที่เวลา 12 สัปดาห์ 67

ตารางที่ 20 การเจริญเติบโตด้านความยาวของลูกกุ้งมดแดงที่อนุบาลด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกันที่เวลา 12 สัปดาห์ 69

ตารางที่ 21 ระยะเวลาในการลงเกาะของลูกกุ้งมดแดงที่อนุบาลด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกัน 69

ตารางที่ 22 คุณภาพน้ำระหว่างการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกัน ..70

ตารางที่ 23 กิจกรรมเอนไซม์จากการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกัน 72

ตารางที่ 24 เปรียบเทียบงานวิจัยลักษณะของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทสำหรับอนุบาลสัตว์น้ำ 76

ตารางที่ 25 การอนุบาลลูกกุ้งมดแดงและการทดสอบอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทในสัตว์น้ำ......81

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 กุ้งมดแดง R. durbanensis เพศผู้ (ก) เพศเมีย (ข)....6

ภาพที่ 2 การแพร่กระจายของกุ้งมดแดงในภูมิภาคต่าง ๆ 7

ภาพที่ 3 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 1 9

ภาพที่ 4 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 2 10

ภาพที่ 5 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 3 10

ภาพที่ 6 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 4 11

ภาพที่ 7 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 5 11

ภาพที่ 8 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 6 12

ภาพที่ 9 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 7 12

ภาพที่ 10 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 8 13

ภาพที่ 11 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 9 13

ภาพที่ 12 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 10 14

ภาพที่ 13 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 11 14

ภาพที่ 14 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 12 15

ภาพที่ 15 กุ้งมดแดงระยะโพสลาร์วา....15

ภาพที่ 16 Microbound diets (MBD)....22

ภาพที่ 17 ปูแสม (Episesarma singaporense)....23

ภาพที่ 18 Micro-encapsulated diets (MED) a,b ลักษณะอนุภาคผนังหนา c,d ลักษณะอนุภาคผนังบาง 24

ภาพที่ 19 Marrumerisation diet (MEM)....25

ภาพที่ 20 ลักษณะโครงสร้างอาหาร Micro-encapsulated (MED) และ Microbound (MBD)....26

ภาพที่ 21 ลักษณะโครงสร้างของไมโครเอนแคปซูล..27

ภาพที่ 22 รูปแบบของไมโครแคปซูล; Single core ก, Multi-wall ข และ Matrix encapsulation ค.28

ภาพที่ 23 โครงสร้างของไมโครแคปซูล...29

ภาพที่ 24 เทคนิคการผลิตไมโครแคปซูลแบบต่าง ๆ 31

ภาพที่ 25 กระบวนการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยวิธี Air Suspension...32

ภาพที่ 26 กระบวนการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยวิธี Coacervation phase separation......................33

ภาพที่ 27 กระบวนการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยวิธี Centrifugal extrusion 34

ภาพที่ 28 กระบวนการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยวิธี Pan coating..34

ภาพที่ 29 กระบวนการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยเครื่อง Spray-dryer...35

ภาพที่ 30 กระบวนการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยวิธี Solvent evaporation 36

ภาพที่ 31 กระบวนการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยวิธี Polymerization (a) การกระจายตัวของวัสดุแกนกลางในสารละลายพอลิเมอร์ (b) การแยก coacervate จากสารละลาย (c) การเคลือบวัสดุแกนกลาง (d) การรวมตัวของ coacervate เพื่อสร้างวัสดุเคลือบรอบอนุภาค..................................36

ภาพที่ 32 การใช้ไมโครเอนแคปซูลในการรักษาโรคติดเชื้อในฟัน 38

ภาพที่ 33 วิธีผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มด้วยวิธีคอมเพล็กซ์โคอะเซอร์เวชัน 39

ภาพที่ 34 ตัวอย่างบรรจุภัณฑ์อาหารที่มีการเคลือบกลิ่นเฉพาะจุด..40

ภาพที่ 35 การทำไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยโดยใช้เทคนิคการพ่นแห้ง................................41

ภาพที่ 36 ลักษณะอนุภาคของอาหารที่ห่อหุ้มด้วยไมโครแคปซูลที่ใช้ในการเลี้ยงหอยสองฝา 42

ภาพที่ 37 อัตรารอดของกุ้งขาวแวนาไมที่เลี้ยงด้วย TEM ระดับต่างกัน, T1 ชุดควบคุม, T2 TEM 0.1 เปอร์เซ็นต์, T3 TEM 0.5 เปอร์เซ็นต์ และ T4 1 เปอร์เซ็นต์ 45

ภาพที่ 38 ลักษณะอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทภายใต้กล้องจุลทรรศน์.......................................59

ภาพที่ 39 ลักษณะอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเมื่อลอยอยู่ในน้ำ..59

ภาพที่ 40 ลักษณะของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทหลังจากแช่น้ำเป็นเวลา 30 นาที (ก), 1 ชั่วโมง (ข), 2 ชั่วโมง (ค), 3 ชั่วโมง (ง), 4 ชั่วโมง (จ) และ 24 ชั่วโมง (ฉ) 60

ภาพที่ 41 พ่อแม่พันธุ์กุ้งมดแดง R. durbanensis 65

ภาพที่ 42 ลูกกุ้งมดแดงแรกฟัก 66

ภาพที่ 43 อัตรารอดของลูกกุ้งมดแดงที่อนุบาลด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกันที่เวลา 12 สัปดาห์ 67

ภาพที่ 44 ลูกกุ้งมดแดงกำลังจับกินอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท....................68

ภาพที่ 45 ลักษณะของเอนไซม์ที่สกัดได้จากลูกกุ้งมดแดง 71

ภาพที่ 46 อาหารไมโครแคปซูลที่มีผนังเจลาตินก่อนการเคลือบ (ก) และหลังการเคลือบ (ข,ค) 74

ภาพที่ 47 ลักษณะอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเมื่ออยู่ในน้ำ....................75

ภาพที่ 48 ทำการเก็บตัวอย่างสัตว์ทดลอง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาค่าต่าง ๆ 103

ภาพที่ 49 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง ด้วยวิธี in vitro digestibility.104

ภาพที่ 50 วิเคราะห์หาการสูญเสียปริมาณโปรตีน (Soluble Protein) ด้วยวิธี Lowry method........105

ภาพที่ 51 การเตรียมสารสกัด เพื่อใช้วิเคราะห์หากิจกรรมเอนไซม์จากลูกกุ้งมดแดง 106

ภาพที่ 52 วิเคราะห์กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรติเอส....................107

ภาพที่ 53 วิเคราะห์กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ ทริปซิน และไคโมทริปซิน 108

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กุ้งมดแดงเป็นกุ้งในวงศ์ Rhynchocinetidae มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Dancing shrimp, Hingebeak shrimp, Camel shrimp มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Rhynchocinetes durbanensis* (Gordon, 1936) เป็นกุ้งทะเลสวยงามขนาดเล็ก ความยาว 4-5 เซนติเมตร บริเวณลำตัวมีลวดลายแดงสลับขาว สีสันสดใส รูปร่างแปลกตา (Moazzam, Ahmed and Kazmi, 2020) อาศัยอยู่รวมกันเป็นกลุ่มตามซอกโพรงปะการัง รอยแยกของหิน และโครงสร้างแนวปะการังชายฝั่ง ที่ความลึก 2-3 เมตร พบแพร่กระจายในภูมิภาคอินโด – แปซิฟิก (Chace, 1997) ในประเทศไทยพบแพร่กระจายแถบจังหวัดชลบุรี สุราษฎร์ธานี กระบี่ และสตูล บริเวณที่พบบ่อยที่สุดในทะเลรอบเกาะเต่า (สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556) เกาะแสมสาร เกาะลันตา เป็นต้น จากการสำรวจสัตว์ทะเลสวยงามในกลุ่มกุ้ง กั้ง ปู (Marine Oranmental Decapods) ของประเทศไทย พบว่ากุ้งมดแดงเป็น 1 ใน 6 ชนิดของกุ้งทะเลสวยงามที่เป็นที่ต้องการในตลาด และมีมูลค่าสูง พบมากเป็นอันดับ 2 ของการนำเข้า ในปี 2553 มากถึง 5,629 ตัว และในปี 2554 เพิ่มขึ้นเป็น 14,915 ตัว ราคาต่อตัวเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 150 บาท (เสาวภา สวัสดิ์พีระ และคณะ, 2556) มีการซื้อขายกุ้งชนิดนี้ทั่วโลก ในต่างประเทศอุตสาหกรรมสัตว์ทะเลสวยงามมีความต้องการกุ้งมดแดงเป็นจำนวนมาก (Calado, 2008) ราคาขายในตลาดต่างประเทศอยู่ระหว่าง 300 – 360 บาทต่อตัว ในตลาดท้องถิ่นขายในราคา 200-300 บาทต่อตัว ส่วนใหญ่เป็นกุ้งที่จับขึ้นมาจากธรรมชาติ (Raheem, n.d.)

ในด้านการเพาะเลี้ยงจากการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อนในโรงเรือนสาธิตการเพาะเลี้ยงสัตว์และพืชทะเลสวยงาม สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล พบว่าลูกกุ้งมดแดงแรกฟักมีขนาดความยาว 2.3 ±0.12 มิลลิเมตร เมื่อลูกกุ้งมดแดงฟักจะอนุบาลด้วยอาร์ทีเมียแรกฟักร่วมกับแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหาร (ศิริวรรณ ชูศรี, วิไลวรรณ พวงสันเทียะ และจารุนันท์ ประทุมยศ, 2563) เช่นเดียวกับชมพูนุช หลักดี, 2554 ที่อนุบาลลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อนด้วยโรติเฟอร์ อาร์ทีเมีย และแพลงก์ตอนพืช อัตรารอดอยู่ระหว่าง 40-50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใหญ่การอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อนจะนิยมใช้แพลงก์ตอนสัตว์และแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหาร แต่ก็พบว่ามีอัตราการตายค่อนข้างสูงโดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะ zoea เนื่องจากคุณค่าทางอาหารไม่เพียงพอ (Pérez-Morales, Band-Schmidt and Martinez-Diaz, 2016) อีกทั้งการผลิตอาหารมีชีวิตมีค่าใช้จ่ายที่สูงและใช้เวลานาน รวมถึงคุณค่าทางโภชนาการของอาร์ทีเมียจะมีความแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ต้นกำเนิด แม้จะมาจากแหล่ง

เดียวกัน (Conceição, Yufera, Makridis, Morais and Dinis, 2010; Lavens and Sorgeloos, 2000)และยังมีความเสี่ยงต่อการแพร่กระจายของเชื้อโรคได้ (Xie, Wang, Lou, Liu and Guo (2013)

การพัฒนาอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในระยะยาวมีความจำเป็นต้องมีการใช้เทคโนโลยีในการผลิต และกระบวนการที่มีประสิทธิภาพ การจัดหาอาหารราคาถูกที่เชื่อถือได้ และมีคุณค่าทางโภชนาการเป็นสิ่งสำคัญ (Holme, Zeng and Southgate, 2009) ปัจจุบันได้มีการพัฒนาและนำเทคโนโลยีไมโครเอนแคปซูเลชันในการผลิตอาหารอนุภาคขนาดเล็กขึ้นมาเพื่อใช้ทดแทนอาหารมีชีวิตสำหรับการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน เนื่องจากการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนค่อนข้างมีข้อจำกัดในเรื่องของอาหาร โดยพบว่าอาหารที่ให้มีสารอาหารที่ไม่เพียงพอกับความต้องการในการเจริญเติบโต และพัฒนาการ รวมถึงต้นทุนในการผลิตค่อนข้างสูง (Ferna´ndez-D´ıaz and Yuferra, 1997) เพื่อให้เกิดความคุ้มค่าจึงมีการพัฒนาอาหารที่มีอนุภาคขนาดเล็กซึ่งให้สารอาหารที่เพียงพอต่อความต้องการของตัวอ่อน แต่เนื่องจากสารอาหารที่ให้ไม่มีความคงตัว และไม่ทนต่อสภาพแวดล้อม จึงต้องมีการนำเทคนิคไมโครแคปซูลมาใช้ เพื่อเป็นการห่อหุ้มสารอาหารเหล่านั้นและเป็นการรักษาความสมบูรณ์ของอนุภาคอาหารจนกว่าจะถูกนำไปใช้ รวมทั้งเป็นการป้องกันการชะล้างและการย่อยสลายของส่วนผสมทางโภชนาการในน้ำ และเป็นการกระตุ้นสารเคมีช่วยในเรื่องการย่อย และการยอมรับอาหารสำเร็จรูปต่อไป (Yufera, Pascual and Ferna’ndez-D’iaz, 1999) ข้อได้เปรียบของอาหารขนาดเล็กเหล่านี้แตกต่างจากอาหารมีชีวิต ในเรื่องของขนาด ต้นทุนการผลิตและความสม่ำเสมอของององค์ประกอบของอาหาร สามารถปรับให้เหมาะสมได้ตามความต้องการของชนิดตัวอ่อนที่เลี้ยง (Kovalenko, D’Abramo, Ohs and Buddington, 2002) ช่วยให้การผลิตอนุภาคที่เสถียรภาพ เพื่อป้องกันสารอาหารที่มากเกินไป และควบคุมคุณภาพน้ำที่จะตามมา โดยพบว่าอาหารสำเร็จรูปขนาดเล็ก Microencapsulated เป็นอีกทางเลือกที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนได้ (Yufera, Fernández-Diaz and Pascual, 2005) เนื่องจากต้นแบบของอาหารไมโครแคปซูลค่อนข้างเสถียร และมีโครงสร้างของอนุภาคที่มีความเหมาะสม การศึกษาส่วนใหญ่จะมุ่งเน้นไปในเรื่องของการทดแทนอาหารโดยใช้อาหารไม่มีชีวิต ไม่ว่าจะเป็นการใช้อาหารมีชีวิตร่วมกับอาหารไม่มีชีวิต หรือการกำหนดช่วงเวลาในการให้อาหารไม่มีชีวิตร่วมกับการให้อาหารมีชีวิต เป็นต้น (Walford, Lim and Lam, 1991) ประเด็นหลักที่ต้องพิจารณาในการเลือกใช้อาหารเพื่อนำมาใช้ในการอนุบาล คือ องค์ประกอบของอาหาร ความสัมพันธ์ระหว่างตัวอ่อนอนุภาคของอาหาร คุณภาพน้ำทะเล (Yuferra, Pascual and Fernandez-Diaz, 1999) คำนึงถึงความดึงดูดที่ลดลงของตัวอ่อนต่ออนุภาคเฉื่อย (Cox and Pankhurst, 2000; Fernandez-Diaz, Pascual and Yúfera, 1994) และความเสี่ยงของการชะล้างสารอาหารเนื่องจากพื้นผิวมีอัตราส่วนพื้นที่น้อย (Kvåle et al., 2006; Langdon, 2003)

การให้อาหารร่วมกันระหว่าง microdiets และอาหารมีชีวิต เป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดความสำเร็จในการให้อาหารร่วมกัน ประการแรกคือการกระตุ้นสารเคมีช่วยให้การย่อยอนุภาคเฉื่อยและการยอมรับอาหารแห้ง (Canavate and Fernandez-Diaz, 1999; Rosenlund, Stoss and Talhot, 1997) ประการที่สองการให้อาหารมีชีวิตมีปัจจัยทางโภชนาการมากมายที่ช่วยกระตุ้นการหลั่งเอนไซม์ของตับอ่อนและการตอบสนองต่อมไร้ท่อซึ่งนำไปสู่การเจริญเติบโตของระบบย่อยอาหาร (Kolkovski, Koven and Tandler, 1997; Koven, Kolkovski, Hadas, Gamsiz and Tandler, 2001) การพัฒนาระบบย่อยอาหารจะลดลงอย่างต่อเนื่องในการย่อยโปรตีน และการดูดซึม และจะมีการเพิ่มการย่อยอาหารนอกเซลล์และการส่งผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ในเวลาเดียวกัน (Govoni, Boehlert and Watanabej 1986)

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นอาหารขนาดเล็กไมโครเอนแคปซูลเลทสามารถจะเป็นทางเลือกสำหรับการนำมาใช้ประโยชน์เพื่อการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อน ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้อาหารสำเร็จรูปขนาดเล็ก (Microencapsulated diet) ในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อน ร่วมกับอาหารมีชีวิต เพื่อประเมินอัตรารอด การเจริญเติบโต และระยะเวลาในการลงเกาะของลูกกุ้งมดแดง

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลท (Microencapsulated diet) ร่วมกับอาหารมีชีวิตในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อน ต่ออัตรารอด การเจริญเติบโต และระยะเวลาในการลงเกาะของลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อนตั้งแต่แรกฟักจนถึงระยะที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Metamorphosis)

2. เพื่อศึกษาความสามารถในการย่อยอาหาร และกิจกรรมของเอนไซม์ในการย่อยอาหารของลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อนที่ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทด้วยเทคนิค *in vitro*

สมมติฐานของการวิจัย

1. อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทมีผลต่ออัตรารอด การเจริญเติบโต และระยะเวลาในการลงเกาะของลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อน

2. อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทมีผลต่อความสามารถในการย่อยอาหาร และกิจกรรมของเอนไซม์ในการย่อยอาหารของลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อน

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

จากการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อน เพื่อให้มีอาหารที่สามารถรองรับการเจริญเติบโต อัตรารอด และพัฒนาการของลูกกุ้ง ผลลัพธ์จากการศึกษาให้ข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์สำหรับการยอมรับอาหารที่เหมาะสม ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการทดลองในอนาคต เพื่อกำหนดระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการยอมรับอาหารของลูกกุ้งมดแดง เป็นการสร้างมูลค่าให้กับการเพาะเลี้ยง และเป็นข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์สำหรับการเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลสวยงามชนิดอื่น ๆ ต่อไปในอนาคต

ขอบเขตของการวิจัย

เลี้ยงพ่อ – แม่พันธุ์กุ้งมดแดง *R. durbanensis* จนกระทั่งวางไข่และฟัก นำลูกกุ้งมดแดงที่ได้มาทดลองในถังอนุบาลขนาด 10 ลิตร ที่ความหนาแน่น 3 ตัวต่อลิตร (30 ตัวต่อถัง) ทำการศึกษารูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกัน 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ คือชุดการทดลองที่ 1 ให้อาร์ทีเมียเป็นอาหารที่ความหนาแน่น 3 ตัวต่อมิลลิลิตรตลอดการทดลอง ชุดการทดลองที่ 2 ให้อาร์ทีเมียเป็นอาหารที่ความหนาแน่น 3 ตัวต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 18 วัน และวันที่ 15 เริ่มให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทจนสิ้นสุดการทดลอง ชุดการทดลองที่ 3 ให้อาร์ทีเมียที่ความหนาแน่น 3 ตัวต่อมิลลิลิตร ร่วมกับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทตลอดการทดลอง และชุดการทดลองที่ 4 ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทตลอดการทดลอง ที่มีผลต่ออัตรารอด การเจริญเติบโต ระยะเวลาในการลงเกาะ ความสามารถในการย่อยอาหาร และการทำงานของเอนไซม์ในการย่อยอาหารของลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อนตั้งแต่แรกฟักจนถึงระยะที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากข้อมูลรายงานการวิจัยธุรกิจการค้าสัตว์ทะเลสวยงามในกลุ่มกุ้ง กั้ง ปู ของประเทศไทยพบว่า ชนิดของกุ้งทะเลสวยงามที่มีมูลค่าสูง และมีความต้องการในตลาด มีด้วยกัน 6 ชนิด เป็นชนิดที่พบในประเทศไทยจำนวน 4 ชนิด คือกุ้งการ์ตูน (*Hymenocera picta*) กุ้งพยาบาล (*Lysmata amboinensis*) กุ้งมดแดง (*Rhynchocinetes durbanensis*) และกุ้งนักเลง (*Stenopus hispidus*) ไม่มีรายงานการพบในประเทศไทย 2 ชนิด คือ กุ้งไฟ (*Lysmata debelius*) และกุ้งเปปเปอร์มินท์ (*Lysmata wurdemani*) ซึ่งทั้ง 6 ชนิด มีศักยภาพต่อการพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยง เพื่อลดการจับจากธรรมชาติ และเป็นการสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรผู้ทำการเพาะเลี้ยงในอนาคต (เสาวภา สวัสดิ์พีระ และคณะ, 2556) สำหรับกุ้งมดแดงเป็นกุ้งทะเลสวยงามอีกชนิดหนึ่งที่ตลาดมีความต้องการและนิยมนำมาเลี้ยง แต่เนื่องจากในตลาดส่วนใหญ่เป็นกุ้งที่จับมาจากธรรมชาติ เป็นการรบกวนแนวปะการัง และเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ได้ จึงได้มีการนำกุ้งชนิดนี้มาศึกษา เพื่อพัฒนาการวิจัย และขยายพันธุ์ต่อไป

กุ้งมดแดง *Rhynchocinetes durbane*nsis (Gordon, 1936)

กุ้งมดแดงเป็นกุ้งในวงศ์ Rhynchocinetidae มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Dancing shrimp, Hingebeak shrimp, Camel shrimp มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Rhynchocinetes durbanensis* (Gordon, 1936) เป็นกุ้งทะเลสวยงาม พบในภูมิภาคอินโด – แปซิฟิก ความยาว 4-5 เซนติเมตร มีลำดับชั้นทางอนุกรมวิธาน ดังนี้

Kingdom: Animalia
Phylum: Arthropoda
Class: Malacostraca
Order: Decapoda
Family: Rhynchocinetidae
Genus: Rhynchocinetes
Specific name: durbanensis - Gordon, 1936
Scientific name: *Rhynchocinetes durbanensis* Gordon, 1936

1. ลักษณะทั่วไป

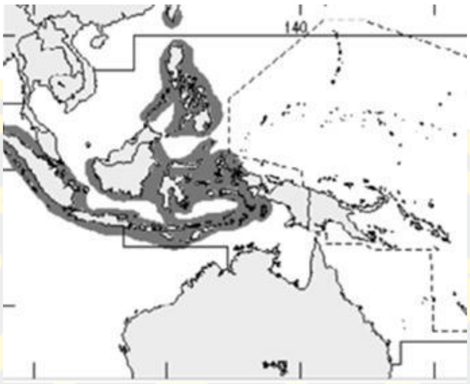
กุ้งมดแดงเป็นกุ้งทะเลสวยงามขนาดเล็ก บริเวณลำตัวมีลวดลายแดงสลับขาว สีสันสดใส รูปร่างแปลกตาค่อนข้างโปร่งแสง พื้นผิวด้านหลังของเปลือกมีลวดลายคล้ายพยัญชนะตัว Y ในภาษาอังกฤษ หางมีหนามสั้น ๆ สามอันที่ด้านหลัง ตามีขนาดใหญ่และกลม เปลือกปกคลุมบริเวณหัว ลักษณะเรียบ ไม่มีรอยหยัก (Moazzam et al., 2020) เปลือกที่ปกคลุมบริเวณหัวกับกรีจะไม่สมบูรณ์ สามารถขยับไปมาได้ ฟันกรีมีลักษณะใหญ่และหยาบ ก้ามบริเวณขาเดินคู่แรกทั้งสองข้างมีขนาดเกือบเท่ากัน ขาเดินคู่ที่สองใหญ่และยาวกว่าขาเดินคู่แรก สามารถแยกเพศผู้และเพศเมียได้จากลักษณะภายนอก เพศผู้จะมีลำตัวเล็กเรียวยาว โคนหางเล็ก ขาเดินคู่ที่ 1 เปลี่ยนเป็นลักษณะแหลมเรียว และขาเดินคู่ที่ 2 เปลี่ยนไปเป็นก้ามขนาดใหญ่กว่าเพศเมีย (ภาพที่ 1ก) ส่วนเพศเมียจะมีลำตัวใหญ่กว่าเพศผู้เพื่อรองรับไข่บริเวณท้องหลังจากได้รับการผสมพันธุ์ (ภาพที่ 1ข) เป็นกุ้งที่ออกหากินในเวลากลางคืน โดยคอยจับกินเศษซากอินทรีย์หรือแพลงก์ตอนที่ลอยมาตามกระแสน้ำเป็นอาหาร บางชนิดชอบไต่ตามตัวปลาขนาดใหญ่เพื่อจับกินพาราสิตภายนอกของปลา อาศัยกันเป็นฝูงบริเวณแนวปะการัง พื้นทราย และหลบซ่อนตามซอกหิน (ชมพูนุช หลักดี, 2554)

ภาพที่ 1 กุ้งมดแดง *R. durbanensis* เพศผู้ (ก) เพศเมีย (ข)
ที่มา: ชมพูนุช หลักดี (2554)

2. การแพร่กระจาย

กุ้งมดแดงเป็นกุ้งที่อาศัยอยู่รวมกันเป็นกลุ่มตามซอกโพรงปะการัง รอยแยก และรอยร้าวของหินและโครงสร้างแนวปะการังชายฝั่ง ที่ความลึก 2 - 3 เมตร จนถึงระดับความลึกหลายสิบเมตร พบแพร่กระจายทั่วโลก เป็นกุ้งอีกชนิดหนึ่งที่พบในภูมิภาคอินโด – แปซิฟิก ในแอฟริกาใต้ หมู่เกาะริวกุ ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย (Chace, 1997) (ภาพที่ 2) ในน่านน้ำอินเดีย ชายฝั่งกรณาฏกะ อ่าวมันนาร์ (Prakash and Ajithkumar, 2013) และน่านน้ำอันดามัน ในประเทศไทยพบแพร่กระจายแถบจังหวัดชลบุรี สุราษฎร์ธานี กระบี่ และสตูล บริเวณที่พบบ่อยที่สุดในทะเลรอบเกาะเต่า (สำนัก

อนุรักษ์ทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556) เกาะแสมสาร เกาะลันตา หมู่เกาะสุรินทร์ หมู่เกาะราชา หมู่เกาะอาดังราวี หมู่เกาะสิมิลัน และหมู่เกาะพีพี



ภาพที่ 2 การแพร่กระจายของกุ้งมดแดงในภูมิภาคต่าง ๆ
ที่มา: Chace (1997)

3. ความสำคัญของกุ้งมดแดง

ในระบบนิเวศกุ้งมดแดงที่อาศัยในธรรมชาติตามซอก โพรง หรือกิ่งก้านปะการัง จะกินตะกอนและสาหร่ายที่อยู่บนโคโลนีปะการัง มีประโยชน์ช่วยป้องกันการทับถมของตะกอน และการเพิ่มปริมาณของสาหร่าย (สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556) สำหรับในตู้เลี้ยงกุ้งมดแดงจะเป็นส่วนประกอบในการเพิ่มสีสันภายในตู้ สามารถเลี้ยงร่วมกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นได้ เนื่องจากเป็นกุ้งที่เลี้ยงง่าย มีพฤติกรรมเก็บกินซากเศษอาหาร ซากพืช หรือซากสิ่งปฏิกูลภายในตู้ รวมถึงเก็บกินอาหารเม็ดที่เหลือจากการเลี้ยงปลา ช่วยทำความสะอาดภายในตู้ รวมถึงการกำจัดดอกไม้ทะเลขนาดเล็กที่มีเข็มพิษ เพื่อลดการแพร่กระจายภายในตู้ (ชมพูนุช หลักดี, 2554)

สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณและมูลค่าการค้ารายปี สัตว์ทะเลสวยงามในกลุ่มกุ้ง กั้ง ปู (Marine Oranmental Decapods) ของประเทศไทย ระหว่างเดือน มกราคม พ.ศ. 2553 ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2554 จากการสำรวจตลาดการค้าสัตว์สวยงามประจำเดือน และจากข้อมูลการนำเข้าผลการสำรวจแหล่งจำหน่ายสัตว์ทะเลสวยงามในเขตกรุงเทพมหานคร พบว่ากุ้งมดแดงเป็น 1 ใน 6 ชนิดของกุ้งทะเลสวยงามที่เป็นที่ต้องการในตลาด และมีมูลค่าสูง พบมากเป็นอันดับ 2 ของการนำเข้า ในปี 2553 มากถึง 5,629 ตัว และในปี 2554 เพิ่มขึ้นเป็น 14,915 ตัว ราคาต่อตัวเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 150 บาท เป็นกุ้งอีกชนิดที่มีศักยภาพต่อการส่งเสริมเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงและสามารถผลักดันให้มีการพัฒนาเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งของประเทศได้ (เสาวภา

สวัสดิ์พีระ และคณะ, 2556) สำหรับในต่างประเทศกุ้งชนิดนี้มีความต้องการเป็นจำนวนมากในอุตสาหกรรมสัตว์ทะเลสวยงาม มีการซื้อขายทั่วโลก (Calado, 2008) ราคาขายในตลาดต่างประเทศอยู่ที่ 300 – 360 บาทต่อตัว ในตลาดท้องถิ่นขายในราคา 200 - 300 บาทต่อตัว ส่วนใหญ่เป็นกุ้งที่จับขึ้นมาจากธรรมชาติ (Raheem, n.d.)

4. การเพาะเลี้ยงและการอนุบาล

พ่อแม่พันธุ์กุ้งมดแดงที่มีความสมบูรณ์จะต้องแข็งแรง มีอวัยวะและรยางค์ครบ ลวดลายและสีสันชัดเจน นำมาเลี้ยงในระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิด ใช้สาหร่ายในการบำบัดคุณภาพน้ำ อัตราปล่อยต่อตู้เพศผู้ : ต่อเพศเมีย 1:1 ภายในตู้จัดให้มีหินเป็น (Live rock) ขนาดต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นที่หลบซ่อน และเป็นที่อาศัยของกุ้งมดแดง ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูป เป็นอาหารทุกวัน วันละ 2 ครั้ง (ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ, 2563) และควรเสริมด้วยกุ้งสับ หรือเพรียงทรายให้แก่พ่อแม่พันธุ์กุ้ง เนื่องจากเพรียงทรายเป็นอาหารสัตว์น้ำที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีโปรตีนและไขมันที่เหมาะสม เช่น arachidonic acid ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง ฮอร์โมน prostaglandin ช่วยให้รังไข่ของแม่พันธุ์กุ้งมีการพัฒนาอย่างรวดเร็ว ประกอบด้วยฮอร์โมนหลายชนิด เช่น progesterone (เสาวลักษณ์, 2548) prostaglandin (Croz, Wong, Justines and Gupta, 1988) methylphanesoate (Abdu, Takac, Laufer and Sagi, 1998) ovarian hormone (เอกชัย, 2548) ช่วยส่งเสริมการเจริญพันธุ์ของกุ้ง (Fingerman, 1997) จึงนิยมนำแม่เพรียงทรายมาใช้เป็นอาหารสำหรับขุนพ่อแม่พันธุ์กุ้ง ทำให้มีการเจริญพันธุ์รวดเร็วและให้ไข่ที่มีคุณภาพดี

พ่อแม่พันธุ์กุ้งมดแดงจะผสมพันธุ์กันในช่วงเวลากลางวัน และกลางคืน เมื่อปฏิสนธิแล้วใช้ระยะเวลาในการฟัก 9 - 12 วัน และจะวางไข่ทุกครั้งหลังจากลอกคราบ (Prakash, Ajithkumar, Bauer, Thiel and Subramoniam, 2015) เพศเมียจะวางไข่ได้ลูกกุ้งตั้งแต่ 772 – 1,958 ตัว เมื่อแม่พันธุ์กุ้งวางไข่ และไข่มีการพัฒนาเปลี่ยนจากสีน้ำตาลเข้มเป็นสีเทา และมีจุดตาสีดำวาว ให้แยกแม่พันธุ์กุ้งออกมาฟัก (ชมพูนุช หลักดี, 2554) ในถังอนุบาลขนาด 100 ลิตร ให้อากาศผ่านหัวทรายเบา ๆ เมื่อลูกกุ้งฟักให้ย้ายแม่พันธุ์กุ้งมดแดงออก อนุบาลลูกกุ้งที่ความหนาแน่น 1-3 ตัวต่อลิตร ให้อาหารลูกกุ้งด้วยโรติเฟอร์ อาร์ทีเมียแรกฟัก และแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหารทุกวัน เปลี่ยนถ่ายน้ำ ดูดตะกอนทุกวัน ๆ ละ 50 เปอร์เซ็นต์ ทำความสะอาดและเปลี่ยนถังอนุบาลทุกสัปดาห์ตลอดการอนุบาล (ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ, 2563)

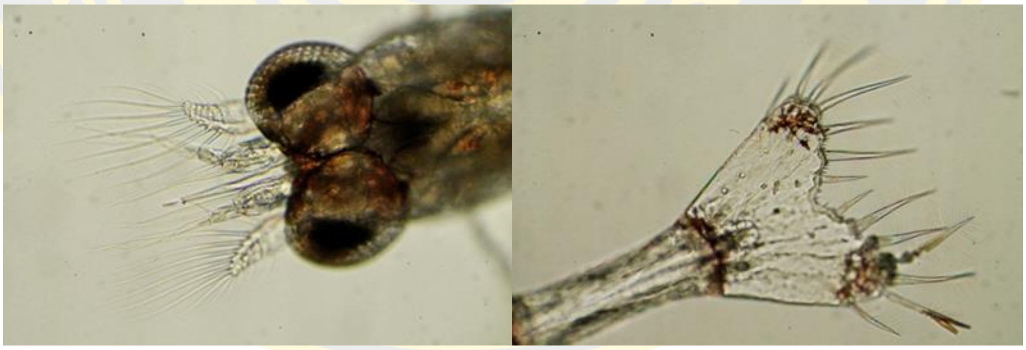
5. คุณสมบัติของน้ำ

คุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อการอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อน อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 27 ± 10 องศาเซลเซียส ความเค็มอยู่ระหว่าง 30 ± 1.0 ส่วนในพันส่วน ความเป็นกรดเป็นด่าง อยู่ระหว่าง 7.9 – 8.2 ความเป็นด่างของน้ำอยู่ระหว่าง 120 – 140 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชมพูนุช หลักดี, 2554)

6. พัฒนาการและการเจริญเติบโต

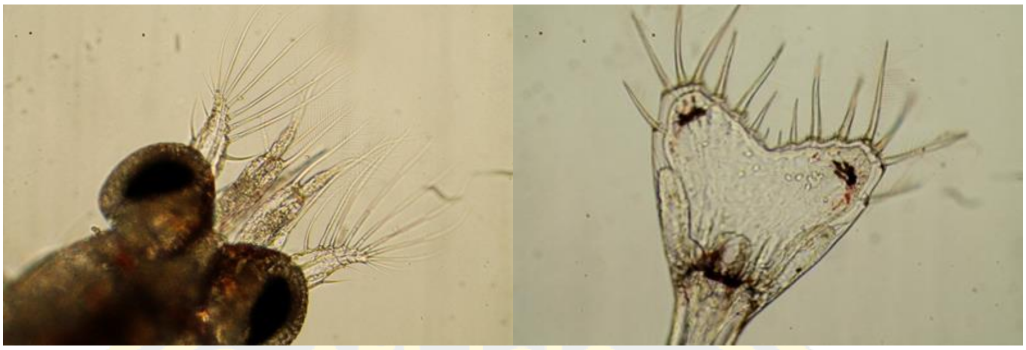
จากการศึกษาพัฒนาการของลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อนของศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563) ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ พบว่าลูกกุ้งมดแดงมีพัฒนาการทั้งสิ้น 13 ระยะ คือ ระยะซูเอีย (Zoea) 12 ระยะ และระยะโพสลาร์วา (Postlarva) โดยใช้เวลาในการพัฒนาจากระยะซูเอียถึงระยะโพสลาร์วาเป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 42 วัน ที่อุณหภูมิ 26 - 28 องศาเซลเซียส ซึ่งมีความใกล้เคียงกับการศึกษาของชมพูนุช หลักดี (2554) พบว่าลูกกุ้งมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากระยะซูเอีย ถึงระยะลงเกาะ ใช้เวลาประมาณ 35 - 84 วัน ที่อุณหภูมิน้ำ 26 - 28 องศาเซลเซียส ความเค็ม 29 - 31 ส่วนในพัน ซึ่งมีรายละเอียด ดังนี้

ระยะซูเอีย 1 ช่วงอายุ 1 - 3 วัน ส่วนของตายังติดอยู่กับส่วนหัว มีกรีเกิดขึ้น 1 หยัก แพนหางเป็นแผ่นเดียวกับหาง (2.18 ± 0.34 มิลลิเมตร (มิลลิเมตร) (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 1
ที่มา: ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563)

ระยะซูเอีย 2 ช่วงอายุ 4 - 6 วัน เริ่มมีส่วนของก้านตา มีกรี 1 หยัก แพนหางยังคงเป็นส่วนเดียวกันกับหาง แพนหางเริ่มมีการสร้างในส่วนของ Uropod (2.53 ± 0.19 มิลลิเมตร) (ภาพที่ 4)

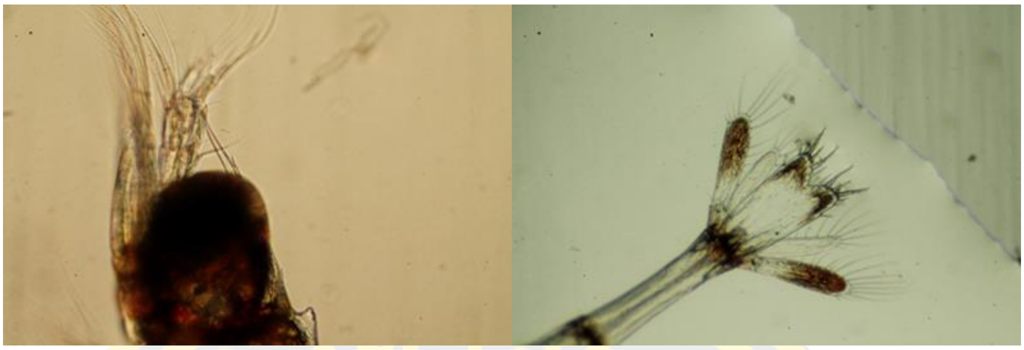


ภาพที่ 4 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 2
ที่มา: ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563)

ระยะซูเอีย 3 ช่วงอายุ 7 - 8 วัน มีก้านตาที่เห็นได้ชัด มีกรี 1 หยัก แพนหาง (Uropod) แยกออกจากหางอย่างชัดเจน และมีการสร้างแพนหางด้านใน (Endopod) ขนาดเล็กขึ้น (3.07 ± 0.38 มิลลิเมตร) (ภาพที่ 5)

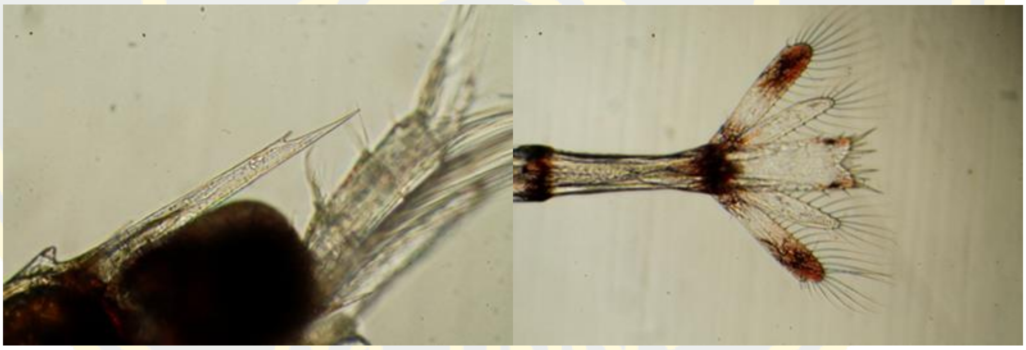
ภาพที่ 5 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 3
ที่มา: ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563)

ระยะซูเอีย 4 ช่วงอายุ 9 - 12 วัน มีกรี 1 หยัก เกิดแพนหางด้านใน (Endopod) ขึ้นซึ่งเห็นได้ชัดเจน (3.24 ± 0.63 มิลลิเมตร) (ภาพที่ 6)



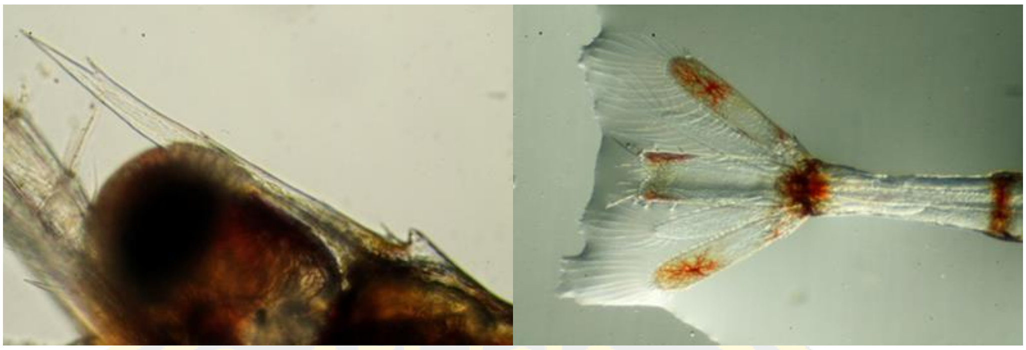
ภาพที่ 6 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 4
ที่มา: ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563)

ระยะซูเอีย 5 ช่วงอายุ 13 - 15 วัน มีกรี 2 หยัก แพนหางด้านในและแพนหางด้านนอกยาวเท่ากับปลายหาง ส่วนของหางมีขนาดแคบลงคล้ายสี่เหลี่ยมผืนผ้า (4.12 ± 0.87 มิลลิเมตร) (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 5
ที่มา: ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563)

ระยะซูเอีย 6 ช่วงอายุ 16 - 17 วัน มีกรี 3 หยัก หางแคบเล็กเรียวลงคล้ายสี่เหลี่ยม (4.86 ± 0.26 มิลลิเมตร) (ภาพที่ 8)

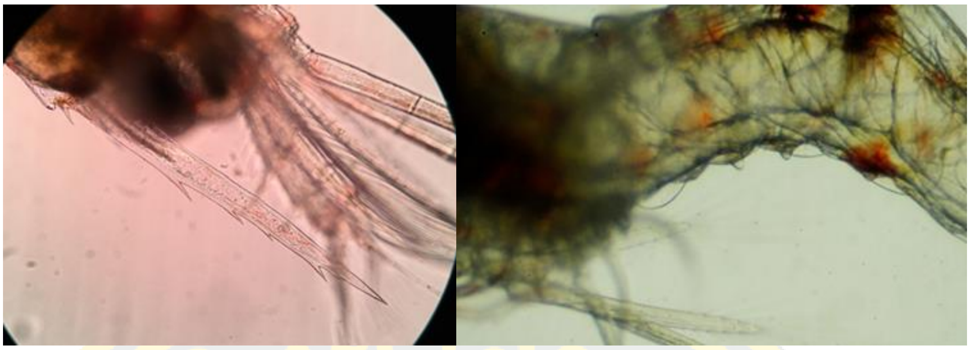


ภาพที่ 8 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 6
ที่มา: ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563)

ระยะซูเอีย 7 ช่วงอายุ 18 - 20 วัน มีกรีเกิดขึ้น 4 หยัก มีพัฒนาการของขาว่ายน้ำขนาดเล็ก ปลายหางเรียวขึ้น แพนหางด้านในและด้านนอกยาวขึ้น (5.49 ± 0.58 มิลลิเมตร) (ภาพที่ 9)

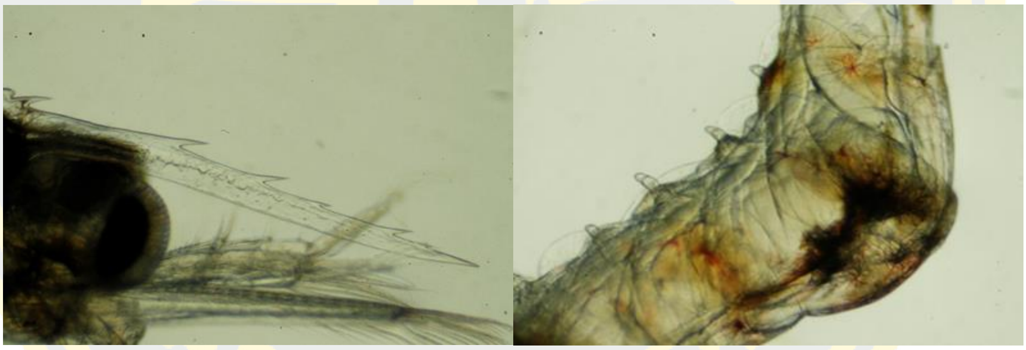
ภาพที่ 9 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 7
ที่มา: ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563)

ระยะซูเอีย 8 ช่วงอายุ 21 – 24 วัน มีกรีเกิดขึ้น 5 หยัก ขาว่ายน้ำพัฒนาชัดขึ้น ปลายหางแคบลง (6.09 ± 0.44 มิลลิเมตร) (ภาพที่ 10)



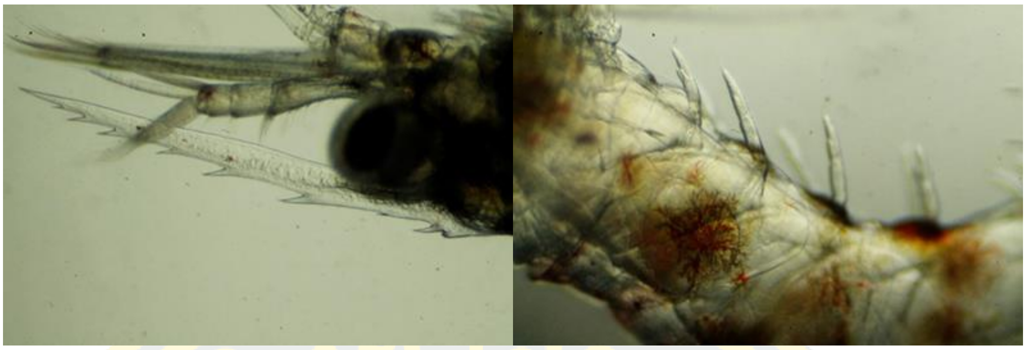
ภาพที่ 10 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 8
ที่มา: ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563)

ระยะซูเอีย 9 ช่วงอายุ 25 – 27 วัน มีกรีเกิดขึ้น 6 หยัก ส่วนของขาว่ายน้ำยาวขึ้น และเริ่มมีการสร้างติ่งที่ 2 ปลายหางแคบ และเรียวลง (8.29 ± 0.66 มิลลิเมตร) (ภาพที่ 11)



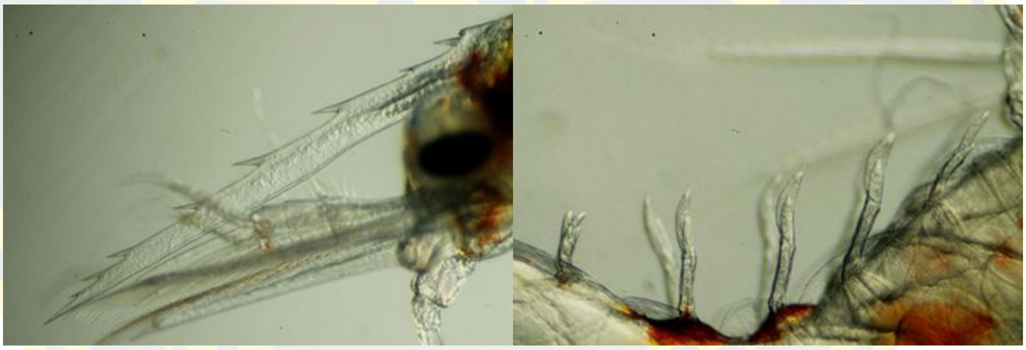
ภาพที่ 11 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 9
ที่มา: ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563)

ระยะซูเอีย 10 ช่วงอายุ 28 – 29 วัน มีกรีเกิดขึ้น 7 หยัก ขาว่ายน้ำยาวเรียวขึ้น และแยกออกเป็นสองส่วนชัดเจน ปลายหางเรียวเล็กลง (9.19 ± 0.37 มิลลิเมตร) (ภาพที่ 12)



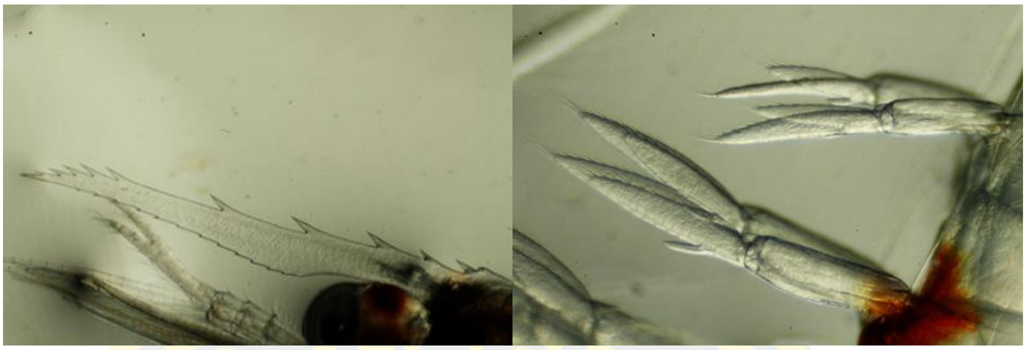
ภาพที่ 12 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 10
ที่มา: ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563)

ระยะซูเอีย 11 ช่วงอายุ 30 – 34 วัน มีกรีเกิดขึ้น 8 หยัก ขาว่ายน้ำยาวขึ้น มีการสร้างติ่งส่วนที่ 3 ขนาดเล็ก ปลายหางเรียวเล็กโค้งมนลงเล็กน้อย (10.03 ± 0.49 มิลลิเมตร) (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 11
ที่มา: ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563)

ระยะซูเอีย 12 ช่วงอายุ 35-41 วัน มีกรี 9 หยัก และบริเวณขอบด้านล่างกรีมีรอยหยักที่เห็นได้ชัดเจนมากขึ้น ขาว่ายน้ำพัฒนาอย่างสมบูรณ์ และเกิดขนอ่อนบริเวณแพนขาว่ายน้ำ หางเรียวเล็กลง ปลายหางโค้งมนเล็กลงกว่าระยะซูเอีย 11 (10.14 ± 0.27 มิลลิเมตร) (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 กุ้งมดแดงระยะซูเอีย 12
ที่มา: ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563)

ระยะโพสลาร์วา ช่วงอายุ 42 - 48 วัน มีรยางค์ต่าง ๆ ครบสมบูรณ์ ลำตัวใสและมีลายเกิดขึ้น รูปร่างคล้ายตัวเต็มวัย (11.72 ± 0.85 มิลลิเมตร) (ภาพที่ 15)

ภาพที่ 15 กุ้งมดแดงระยะโพสลาร์วา
ที่มา: ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563)

อาหารและความต้องการสารอาหารในกุ้ง

อาหารเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเลี้ยงและอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน ที่มีผลต่อพัฒนาการ การเจริญเติบโต อัตรารอด การดำรงชีวิต และการสืบพันธุ์ของสัตว์น้ำ เป็นสิ่งที่ก่อให้เกิดประโยชน์แก่ร่างกาย เป็นแหล่งของพลังงานที่สำคัญ ช่วยสร้างและซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ และควบคุมกระบวนการทำงานต่าง ๆ ภายในร่างกาย โภชนาการสัตว์น้ำวัยอ่อนในทะเลเกี่ยวข้องกับความเข้าใจในกระบวนการทางพฤติกรรม กลไกทางสรีรวิทยา ในสัตว์ตัวอ่อนแต่ละ

ชนิดจะมีความต้องการสารอาหารที่แตกต่างกันเมื่อเทียบกับตัวเต็มวัย พฤติกรรมการกินอาหารจะมีการเปลี่ยนแปลงตามระยะพัฒนา และชนิดของสัตว์น้ำ (Wouters and Fegan, 2004) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ตัวอย่างความต้องการสารอาหารต่าง ๆ ในกุ้งแต่ละระยะ

องค์ประกอบโดยประมาณ	**Zoea-Mysis Feeds**	**จำนวนตัวอย่าง**	**Postlarvae Feeds**	**จำนวนตัวอย่าง**
Protein (% of dry weight)	45-57	11	43-60	41
Lipid (%)	10-29	11	3-19	40
Ash (%)	7-18	11	5-16	38
Starch (%)	2-12	6	1-21	19
Fiber (%)	-	3	1.2-9.4	12
Moisture (%)	3-8	9	3-11	33
HUFA (mg/g)		2.5-3	7	1-3,13
DHA (mg/g)	1.2.3	7	0.14-1.3	23
EPA (mg/g)	1.1-5	7	0.12-6	22
Vitamin C (mg/kg)	1,000-4,500	5	975-4,500	14
Vitamin E (mg/kg)	400-500	5	150-500	15
Calcium (%)	-		0.7-5	10
Phosphorus (%)	-		0.5-2.1	10

ที่มา: Wouters and Fegan (2004)

ในด้านอาหารที่นำมาใช้ในการอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อน ส่วนใหญ่เป็นแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ โดยแพลงก์ตอนพืชที่พบมากสุด คือ *Chaetoceros calcitrans*, *Chaetoceros muelleri*, *Isochrysis* sp., *Tetraselmis suecica*, *Dunaliella tertiolecta*, *Chlorella* sp., *Pavlova* sp., *Phaeodactylum* sp., *Nannochloropsis* sp., *Skeletonema* sp. และ *Thalassiosira* sp. (López-Elías, Voltolina, Cordera-Eaquivel and Nieves-Sota, 2003; Spolaore, Joannis,-Cassan, Duran and Isambert, 2006) แต่ก็พบว่ามีอัตราการตายค่อนข้างสูงโดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะ zoea เนื่องจากคุณค่าทางอาหารไม่เพียงพอ (Pérez-Morales et al., 2016) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Karthik, Thamizharasan, Dharmlingam, Kadiravan and Ashwitha (2016) ได้ทำการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของลูกกุ้ง *Penaeus monodon* และ *L. vannamei* วัยอ่อนด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก 5 ชนิดที่แตกต่างกัน คือ *Isochrysis galbana*, *C. calcitrans, Tetraselmis* sp. *Chlorella* sp. และ *Nannochloropsis* sp.

พบว่าชนิดและระดับสารอาหารที่ได้รับไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของตัวอ่อนกุ้ง สำหรับแพลงก์ตอนสัตว์ที่นิยมนำมาอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนคือโรติเฟอร์และอาร์ทีเมีย แต่การผลิตอาหารมีชีวิตมีค่าใช้จ่ายที่สูงและใช้เวลานาน รวมถึงคุณค่าทางโภชนาการของอาร์ทีเมียจะมีความแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ต้นกำเนิด แม้จะมาจากแหล่งเดียวกัน (Conceição et al., 2010; Lavens and Sorgeloos, 2000) โรติเฟอร์และอาร์ทีเมียขาดทั้งกรดไขมันที่จำเป็นซึ่งเป็นแหล่งพลังงานพื้นฐานและเป็นส่วนประกอบโครงสร้างสำหรับพัฒนาการของตัวอ่อน (Sargent, Mcevoy and Bell, 1997)

อย่างไรก็ตามคุณค่าทางอาหารก็เป็นสิ่งสำคัญที่มีผลต่อการรอด การเจริญเติบโต และพัฒนาการ ซึ่งสารอาหารที่สำคัญที่ตรงกับความต้องการสัตว์น้ำ มีดังนี้

2.1 โปรตีน

ประกอบด้วยกรดอะมิโนซึ่งเป็นกลุ่มที่สำคัญ และเป็นสารอาหารที่มีความจำเป็นของสัตว์ทุกชนิด เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและการดำรงชีวิต และยังเป็นแหล่งของส่วนประกอบหลักในการทำอาหารที่แพงที่สุดเมื่อเทียบกับสารอาหารชนิดอื่น ระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อนจะแตกต่างกันไปตามชนิด ระยะพัฒนาการ และแหล่งที่มาของโปรตีน (D'Abramo, 1998) (ตารางที่ 2) กุ้งแต่ละชนิดจะมีความต้องการโปรตีนที่แตกต่างกันออกไปตามขนาด โปรตีนที่กำหนดไว้สำหรับลูกกุ้งวัยอ่อนมีโปรตีนประมาณ 30-50 เปอร์เซ็นต์ (Conklin, D'Abramo, Brodner and Baum, 1980) กุ้งขนาดเล็กต้องการโปรตีนที่สูงกว่ากุ้งขนาดใหญ่ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต โปรตีนที่เหมาะสมเมื่อลูกกุ้งเริ่มกินอาหารได้ควรสูงประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (บุญชัย, 2532) เมื่อกุ้งโตขึ้นโปรตีนในอาหารควรลดลงประมาณ 25-40 เปอร์เซ็นต์ กุ้งก้ามกรามวัยอ่อน มีความต้องการโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ (Millikin, Fortner, Fair and Sick, 1980) กุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่นต้องการโปรตีน 30-35 เปอร์เซ็นต์ (Ballazs and Ross, 1976) และกุ้งก้ามกรามโตเต็มวัยต้องการโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ (Manik, 1976) กุ้งขาวระยะ Post larvae ขนาด 0.5 กรัม มีความต้องการโปรตีน 30-35 เปอร์เซ็นต์ และกุ้งขาวระยะ Post larvae ขนาด 1.4-8.5 กรัม มีความต้องการโปรตีน 32 เปอร์เซ็นต์ กุ้งกุลาดำต้องการโปรตีนที่สูงกว่าปลาและกุ้งก้ามกรามถึง 2 เท่า กุ้งกุลาดำวัยอ่อนควรมีโปรตีน 40-50 เปอร์เซ็นต์ สำหรับกุ้งโตเต็มวัยต้องการโปรตีนที่ 45-50 เปอร์เซ็นต์ พ่อแม่พันธ์ต้องการโปรตีนที่ 50-55 เปอร์เซ็นต์ ตัวอ่อน *Penaeid* มีความต้องการโปรตีนระหว่าง 23-55 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง เป็นที่ทราบโดยทั่วไปว่าตัวอ่อนของ *Penaeid* และ ระยะ Postlarvae มีความต้องการโปรตีนในอาหารสูงกว่าระยะ juveniles และระยะโตเต็มวัย อาหารไมโครเอนแคปซูลที่นำมาใช้ในการเลี้ยง *penaeid* ประสบความสำเร็จ ประกอบด้วยโปรตีน 52 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 13-14 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 12 เปอร์เซ็นต์ และ HUFA 2 เปอร์เซ็นต์ (Kumlu, 1999)

ตารางที่ 2 ระดับโปรตีนที่ใช้ในสูตรอาหารสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนและระยะ juveniles

ชนิด	โปรตีนในอาหาร (เปอร์เซ็นต์)
ระยะ Larvae	
Penaeus monodon	30-55
P. japonicus	44-56
P. indicus	40-40.8
P. setiferus	52.7
Macrobrachium rosenbergii	46.1-57.6
Homarus americanus	57
Scylla serrata (megalopa)	55-79.4
ระยะ Juvenile	
P. monodon	35-50
P. setiferus	50
Macrobrachium rosenbergii	47.91-50.76
Homarus americanus	50
Panulirus ornatus	30-55
Cherax quadricarinatus	50
Eriocheir sinensis	39-42.5
S. serrata	34.2-51-8

ที่มา: ดัดแปลงจาก Holme et al. (2009)

2.2 ไขมันและกรดไขมัน

สัตว์น้ำได้รับไขมันทางอาหารที่กินเข้ามา เมื่อกินเข้ามาแล้วจะผ่านกระบวนการเคี้ยวบดให้อาหารมีขนาดเล็กลง และลำเลียงสู่ท่อทางเดินอาหาร จากนั้นจะถูกย่อยให้มีขนาดเล็กลงก่อนร่างกายจะดูดซึมนำไปใช้ในเซลล์ต่อไปได้ การย่อยกรดไขมันในสัตว์น้ำเกิดขึ้นในลำไส้ โดยไขมันจะคลุกเคล้าผสมกับน้ำดีที่หลั่งมาจากตับ ทำให้ไขมันละลายและแตกตัวจากโมเลกุลใหญ่เป็นโมเลกุลเล็กลง เกิดเป็นสารอิมัลชัน (emulsion) ที่ช่วยให้ไขมันสัมผัสกับเอนไซม์ได้มากขึ้น ซึ่งมีเอนไซม์ที่หลั่งมาจากตับอ่อนที่ชื่อว่า เอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส (pancreatic lipase enzyme) และเอนไซม์ที่หลั่งมาจากผนังลำไส้ที่ชื่อว่า อินเทสทินัลไลเปส (intestinal lipase enzyme) จะเข้าไปช่วยย่อยโมเลกุลของไขมันในรูปไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ให้แตกตัวเป็นไดกลีเซอไรด์ (diglyceride) โมโนกลีเซอไรด์ (monoglyceride) กลีเซอรอล (glycerol) และกรดไขมันอิสระ (fatty acid) ซึ่งกลีเซอรอล และกรดไขมันอิสระ เป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็กที่สุด ร่างกายจึงดูดซึมนำไปใช้

ได้และกรดไขมันโอเมก้า 3 เป็นชนิดหนึ่งของกรดไขมันอิสระ และเป็นโมเลกุลที่เล็กที่สุดที่ร่างกายจะนำไปใช้ได้เช่นกันกรดไขมันที่จำเป็นที่สัตว์น้ำต้องการกรดมี 2 รูปแบบ คือ กรดไลโนเลอิค (18: 2 n 6) และกรดไลโนเลอนิค (18: 3 n 3) เนื่องจากสัตว์น้ำไม่สามารถสังเคราะห์กรดทั้ง 2 นี้ได้ จึงจำเป็นที่จะต้องได้รับจากอาหารเพื่อเข้าไปเป็นสารตั้งต้นในการเพิ่มจำนวนคาร์บอนได้เป็นกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูงอีกหลายชนิดในเนื้อเยื่อ โดยมีอุณหภูมิ และความเค็มที่เป็นตัวควบคุมที่มีผลต่อความต้องการของกรดไขมันในสัตว์น้ำด้วย (วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2536) สัตว์น้ำแต่ละชนิดมีความต้องการกรดไขมันที่จำเป็นแตกต่างกันออกไป โดยส่วนใหญ่มีความต้องการประมาณ 0.5-2 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) หากสัตว์น้ำขาดหรือได้รับในปริมาณที่มากเกินความต้องการจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตที่ช้าลง ค่าอัตราเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงขึ้น มีอัตราการตายสูงขึ้น DHA และ EPA มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของสัตว์ทะเลและกุ้งหลายชนิด แต่ไม่ค่อยมีรายงานความต้องการในในเชิงปริมาณ สำหรับกรดไขมันที่จำเป็นต่อตัวอ่อนกุ้ง Penaeid โอเมก้า 2 และ HUFA 1 เปอร์เซ็นต์เป็นค่าที่น้อยที่สุดสำหรับตัวอ่อนระยะ Post larvae

ตารางที่ 3 ระดับไขมันที่ใช้ในสูตรอาหารสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนและระยะ juveniles

ชนิด	ไขมันในอาหาร (เปอร์เซ็นต์)
ระยะ Larvae	
Penaeus monodon	4.3-16.6
P. japonicus	5.5-16.5
P. indicus	8.9-13.3
P. vannamei	11.5
Macrobrachium rosenbergii	12.3-37.4
Homarus americanus	12-19
Scylla serrata (megalopa)	6
ระยะ Juvenile	
Penaeus monodon	7.4
P. indicus	9-12
P. vannamei	7.88-9.99
Macrobrachium rosenbergii	2-11.95
Homarus americanus	6-17
Cherax quadricarinatus	6
Scylla serrata	1.7-9.5

ที่มา: ดัดแปลงจาก Holme et al. (2009)

2.3 วิตามิน

วิตามินที่ละลายในไขมัน และละลายน้ำได้เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับลูกกุ้ง (ตารางที่ 4) การขาดวิตามินนำไปสู่อาการที่ผิดปกติ ทำให้อัตรารอดต่ำ ความต้องการวิตามินซีจะใช้ sodium ascorbate มากกว่า L-ascorbyl-2- polyphosphate มีรายงานความต้องการวิตามินซีของกุ้งหลังฟักใน *P. monodon* และ *L. vannamei* เป็นอาหารขั้นต่ำอยู่ที่ 20 และ 130 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ในขณะที่จำเป็นต้องมีวิตามิน 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเพื่อเพิ่มความต้านทานของกุ้งระยะ Post larvae ต่อสภาวะความเครียดและการติดเชื้อแบคทีเรีย (Wouters and Fegan, 2004)

ตารางที่ 4 ความต้องการวิตามินพื้นฐาน

วิตามิน	ปริมาณ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม อาหารแห้ง)
Thiamine HCl	4
Riboflavin	8
Pyridoxine HCl	12
Nicotinic acid	40
Biotin	0.0
Choline chloride	600
Inositol	200
Na-ascorbate	1,000
Tocopherol	20

ที่มา: Wouters and Fegan (2004)

2.4 คาร์โบไฮเดรต

การใช้คาร์โบไฮเดรตในอาหารสัตว์น้ำแตกต่างกันออกไป ไม่มีข้อกำหนดเฉพาะสำหรับคาร์โบไฮเดรตในอาหาร คาร์โบไฮเดรตใช้เพื่อลดต้นทุนอาหารสัตว์ และมักใช้เป็นสารยึดเกาะในอาหารสัตว์น้ำ กุ้งจะใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงาน และมีความต้องการที่ไม่คงที่ คาร์โบไฮเดรตมีส่วนสำคัญในการปรับสมดุลการใช้โปรตีนและไขมันในการผลิตพลังงาน การใช้คาร์โบไฮเดรตจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด ขนาด และระยะพัฒนาการของสัตว์ (Holme et al., 2009) คาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนผสมที่มีราคาถูก และเป็นแหล่งสะสมไกลโคเจนในตับ เป็นแหล่งอาหารที่ให้พลังงานที่สำคัญในกระบวนการชีวสังเคราะห์ เป็นแหล่งอาหารสำรอง หรือเรียกว่า glucosamine ในการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกและไคตินที่มีผลต่อการสร้างเมือก และการพัฒนาของ

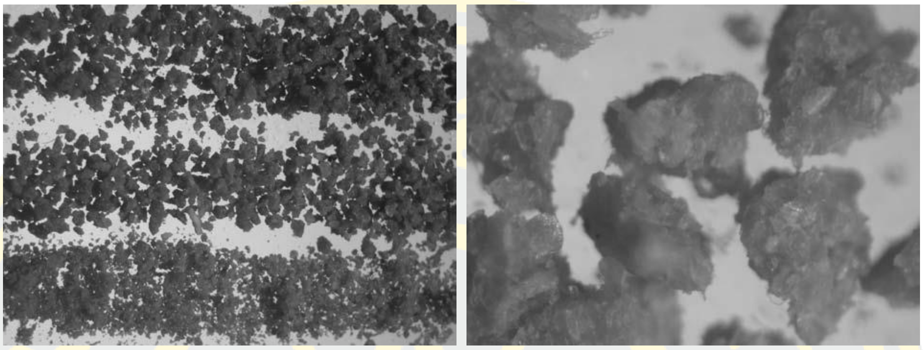
ตัวอ่อน (Rosas et al., 2002) ถ้าในอาหารมีสัดส่วนคาร์โบไฮเดรตมากเกินไปจะสะสมในรูปไกลโคเจน ถ้าขาดคาร์โบไฮเดรตร่างกายจะเอาพลังงานในรูปโปรตีนมาใช้ แต่ถ้ามีไม่เพียงพอร่างกายจะผลิตสารคีโตนมากกว่าปกติ (มีฤทธิ์เป็นกรด) ซึ่งเซลล์กล้ามเนื้อสมองจะนำเซลล์คีโตนไปเป็นพลังงาน เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ ทำให้ไตทำงานหนักเพื่อขับคีโตนออก คาร์โบไฮเดรตในสัตว์น้ำจะถูกย่อยจนได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ร่างกายใช้มากที่สุดคือ กลูโคส ซึ่งจะถูกดูดซึมบริเวณลำไส้โดยวิธีแบบต้านกระแสความเข้มข้น โดยมีโซเดียมเป็นตัวพา (อรพินท์ จินตสถาพร, 2553) กุ้งจะมีเอนไซม์อะไมเลสซึ่งย่อยแป้งได้ดี โดยเฉพาะในแป้งที่มาจากข้าวสาลี ความต้องการคาร์โบไฮเดรตของลูกกุ้งวัยอ่อนอยู่ระหว่าง 15-25 เปอร์เซ็นต์

ประเภทอาหารขนาดเล็ก

ในปัจจุบันมีการพัฒนาเทคนิคการผลิตและแปรรูปอาหารที่แตกต่างกันเพื่อใช้ในการผลิตอาหารอนุภาคขนาดเล็ก รวมถึงมีการคิดสูตรอาหารให้มีประสิทธิภาพเพื่อใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน มีการนำเทคนิคการทำแห้งแบบสเปรย์ โดยการฉีดพ่นส่วนผสมที่ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันในอากาศร้อน เพื่อสร้างแคปซูลที่ปิดสนิทและกันน้ำได้มาใช้ในการผลิตอาหาร ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตอาหารไม่ว่าวิธีใดก็ตามขึ้นอยู่กับความคงตัวของอาหาร ความสามารถในการยอมรับและการย่อยได้ของสัตว์น้ำ คุณค่าทางโภชนาการที่เพียงพอกับความต้องการของสัตว์น้ำ ความคุ้มทุน และการจัดเก็บ การผลิตอาหารขนาดเล็กมีข้อดี คือ ต้นทุนในการผลิตไม่สูงมาก ขั้นตอนการผลิตง่าย สามารถกำหนดคุณค่าทางโภชนาการได้ มีรายงานการนำไปใช้ประสบความสำเร็จในห้องปฏิบัติการและ โรงเพาะฟักแล้ว (ตารางที่ 6) (Kumlu, 1999; Holme et al. 2009) อาหารขนาดเล็กมีด้วยกันหลายประเภทขึ้นอยู่กับลักษณะและการนำไปใช้ คือ

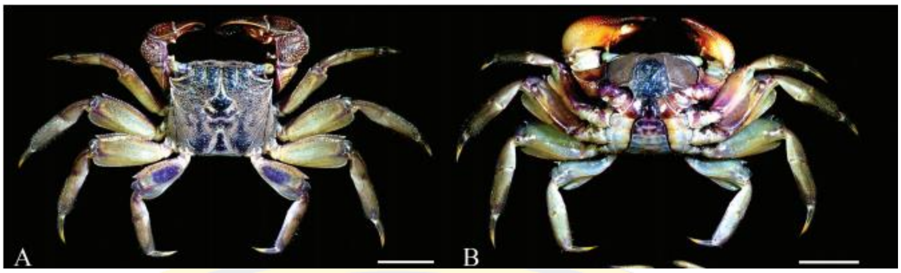
1. **Microbound diets (MBD)** เป็นอาหารขนาดเล็กที่มีกระบวนการผลิตและขั้นตอนการเตรียมที่ง่าย และนิยมใช้มากที่สุดในปัจจุบัน (Rathore, Yusufzai, Katira and Jaiswal 2016) อนุภาค MBD ประกอบด้วยส่วนผสมของอาหารที่อยู่ภายในสารยึดเกาะเป็นตัวช่วยในการประสานกันระหว่างอาหาร เพื่อให้อาหารมีความคงตัวในน้ำได้นาน แต่ไม่มีในส่วนของแคปซูล (ภาพที่ 16) ช่วยให้สามารถย่อยได้ง่ายขึ้น และเพิ่มแรงดึงดูดในการชะล้างสารอาหารได้มากขึ้น ส่วนผสมทั้งหมดถูกบดผสมกับสารยึดเกาะ เช่น อัลจิเนต คาราจีแนน วุ้น เซอีน เจลาติน หรือคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (ช่วยในการลดความสูญเสียของสารอาหารก่อนที่จะนำส่วนผสมต่าง ๆ เข้าเตาอบ) โดยใช้อุณหภูมิหรือสารเคมีจากนั้นจึงทำให้แห้ง (การอบแห้งด้วยดรัมหรือการพ่นแห้งหรือทำให้แห้งแบบเยือกแข็งบด) หลังจากนั้นนำอาหารที่ได้มาบดและกรองเพื่อให้ได้อนุภาคของขนาดอาหารตามที่ต้องการ ผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายเป็นอนุภาคที่มีขอบไม่เรียบและหยาบ (Kumlu, 1999)

อาหารชนิดนี้ช่วยให้สัตว์สามารถย่อยอาหารและทำให้เกิดการยอมรับอาหารได้ง่ายขึ้น เป็นที่นิยมนำมาใช้ในผลิตอาหารเพื่อการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการที่ครบตามความต้องการ และคุณภาพของอาหารมีความสม่ำเสมอ รวมถึงต้นทุนในการผลิตไม่สูงมากนัก



ภาพที่ 16 Microbound diets (MBD)
ที่มา: Kolkovski (2013)

ชาญยุทธ สุดทองคง และวัฒนา วัฒนกุล (มปป.) ได้ทำการศึกษาอาหารสำเร็จรูปขนาดเล็ก microbound diet (MBD) ซึ่งเตรียมจากอาหารสูตรต่าง ๆ (ตารางที่ 5) ที่มีระดับโปรตีนแตกต่างกัน 4 ซ้ำ คือ 30, 35, 40 และ 45 เปอร์เซ็นต์ สำหรับอนุบาลตัวอ่อนปูแสม (*Episesarma singaporense*) (ภาพที่ 17) ระยะ Megalopa แต่ละซ้ำมีตัวอ่อนปูแยกเลี้ยงเดี่ยว 20 ตัว พบว่าอัตรารอดตายและอัตราการเจริญเติบโตของลูกปูแสมระยะ Megalopa ที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูป MBD ไม่มีความแตกต่างกัน โดยอาหารสำเร็จรูป MBD ที่มีระดับโปรตีนในช่วง 30-45 เปอร์เซ็นต์ สามารถใช้อนุบาลลูกปูแสมวัยอ่อนให้มีอัตรารอดและการเจริญเติบโตทางด้านพัฒนาการเข้าสู่ระยะ Crab ได้ ลักษณะเฉพาะของอาหาร MBD ที่แตกต่างจากอาหารมีชีวิต และเป็นจุดเด่น คือ ขนาด และองค์ประกอบของสารอาหารสามารถปรับปรุงให้ตรงตามความต้องการของสัตว์ในแต่ละชนิด และแต่ละช่วงอายุ มีจุดเด่นในแง่เป็นอาหารเป็นทางเลือกสำหรับอนุบาลตัวอ่อนปูแสมที่ดี เนื่องจากมีต้นทุนการผลิตที่ต่ำ ขั้นตอนการผลิตไม่ยุ่งยาก เก็บรักษาอาหารไว้ได้ในระยะสั้น หรือระยะเวลาปานกลาง



ภาพที่ 17 ปูแสม (*Episesarma singaporense*)
ที่มา: Lee, Ngan and Peter (2015)

ตารางที่ 5 องค์ประกอบของวัตถุดิบที่เป็นส่วนผสมของอาหารที่ใช้ในการทดลอง

ส่วนผสม	ระดับโปรตีนในอาหาร (เปอร์เซ็นต์)			
	30	**35**	**40**	**45**
Fish meal	16.75	21.76	26.76	31.76
Shrimp meal	5.00	5.00	5.00	5.00
Soy meal	20.00	20.00	20.00	20.00
Wheat gluten meal	5.22	6.78	8.34	9.90
Fish oil	2.56	2.33	2.11	1.88
Soybean oil	2.56	2.33	2.11	1.88
Dextrin	41.11	34.22	27.32	20.45
Soy lecithin	1.00	1.00	1.00	1.00
Choline chloride	0.30	0.30	0.30	0.30
Calcium biphosphate	1.50	1.50	1.50	1.50
Vitamin premix	0.50	0.50	0.50	0.50
Mineral premix	1.50	1.50	1.50	1.50
Sodium alginate	2.00	2.00	2.00	2.00
Cellulose	0.00	0.78	1.56	2.33

ที่มา: ดัดแปลงจากชาญยุทธ สุดทองคง และ วัฒนา วัฒนกุล (มปป.)

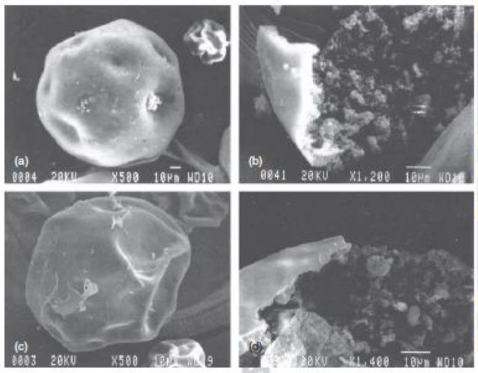
2. Microcoated diets (MCD) วิธี MCD จะขึ้นอยู่กับลักษณะการเคลือบหรือการจับกับอนุภาคอาหาร MBD ขนาดเล็ก เพื่อลดการถูกชะล้างในระหว่างสัมผัสกับน้ำ ชั้นเคลือบมักเป็นไขมัน หรือไลโปโปรตีน วิธีการนี้ไม่ได้มีการใช้บ่อยในทางการค้า (Rathore et al., 2016)

3. Micro-encapsulated diets (MED) อนุภาค MED ถูกสร้างขึ้นโดยใช้เทคนิคต่าง ๆ อนุภาคของ MED มักมีผนังเมมเบรนหรือแคปซูลแยกส่วนผสมที่เป็นอาหารออกจากตัวกลางโดยรอบ (ภาพที่ 18) ผนังแคปซูลจะช่วยรักษาความสมบูรณ์ของอนุภาคอาหารจนกว่าอาหารจะถูกบริโภค เพื่อป้องกันการชะล้าง และการย่อยสลายของส่วนประกอบทางโภชนาการเมื่ออยู่ในน้ำ คุณสมบัติการยับยั้งการชะล้างของสารประกอบที่ละลายน้ำได้ ช่วยลดแรงดึงดูดของสัตว์น้ำวัยอ่อนที่มีต่ออนุภาคอาหาร ผนังแคปซูลยังช่วยลดปริมาณการสูญเสียสารอาหารในระหว่างการย่อยของสัตว์น้ำด้วย (Kolkovski, 2013) กระบวนการในการเคลือบไมโครแคปซูลมีหลายวิธีทั้งกระบวนการทางเคมีและกระบวนการเชิงกล กระบวนการทางเคมีการสร้างไมโครแคปซูลจะทำในของเหลวโดยการคน หรือปั่น กระบวนการเกิดแคปซูล มีดังนี้

3.1 เกิดจากการฉีดพ่นละอองของสารเคลือบลงบนส่วนผสมอาหารโดยตรง

3.2 ฉีดพ่นหยดของเหลวที่เป็นตัวเคลือบที่มีส่วนผสมของอาหารไปในอากาศ

3.3 ฉีดพ่นส่วนผสมของอาหารและสารยึดเกาะลงไปในสารละลาย เพื่อเป็นการกระตุ้นการทำงานของสารยึดเกาะ โดยใช้ปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันที่มีผลต่อของแข็ง ก๊าซ และผิวหน้าของเหลว

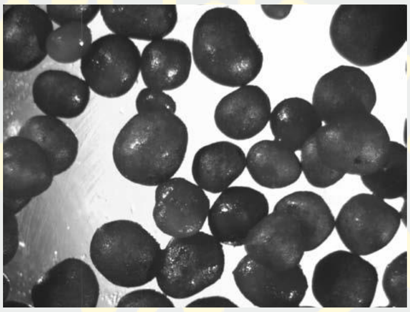


ภาพที่ 18 Micro-encapsulated diets (MED) a,b ลักษณะอนุภาคผนังหนา c,d ลักษณะอนุภาคผนังบาง

ที่มา: Kolkovski, (2013)

4. Marumerization diet (MEM) กระบวนการเคลือบอาหาร MEM ส่วนใหญ่จะเป็นกระบวนการเชิงกลแบบต่าง ๆ เช่น การทำแห้งแบบสเปรย์ การอบแห้งแบบฟลูอิไดซ์เบด การทำรูเมอร์ไรด์ การอัดขึ้นรูปอนุภาคขนาดเล็กแบบเย็น และการรวมตัวกันของอนุภาคแบบหมุนเวียน ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาสองเทคนิคสุดท้ายได้รับความสนใจในการนำมาทำเป็นอาหารที่มีขายตาม

ท้องตลาด กระบวนการผลิตได้รับการพัฒนาเริ่มต้นมาจากกระบวนการทางเภสัชกรรมโดยการใช้เครื่องจักรในการผลิตถูกสร้างขึ้นตามวัตถุประสงค์ในการใช้งาน (Rathore et al., 2016) กระบวนการผลิตอาหาร MEM มี 2 ขั้นตอน คือ การอัดขึ้นรูปแบบเย็นแล้วนำเข้าเครื่องปั่น marumerization (spheronization) กระบวนการนี้สามารถผลิตอนุภาคอาหารได้ตั้งแต่ 500-1,000 ไมโครเมตรขึ้นไป (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 19 Marrumerisation diet (MEM)
ที่มา: Kolkovski, (2013)

ตารางที่ 6 ชนิดของอาหารที่นำมาใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน

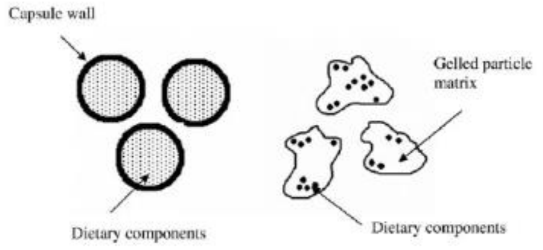
ชนิดสัตว์น้ำ	ชนิดของอาหาร	อัตรารอด
Penaeus monodon	MED	3–29% to PL7
P. monodon	MBD	85% to M1
P. monodon	MED	51–64% to PL
P. monodon	Microcapsules+algae	76%
P. monodon	MED	80% to PL1
P. monodon	MBD	52% VI nauplii to mysis
P. japonicus	MED	50% to PL1
P. japonicus	MBD	75-90% to PL1
P. japonicus	MED+algae	79.5% to PL1
P. indicus	MBD	62% to M1
P. indicus	MED	55.25% to M1
P. indicus	MBD	100% PL20–PL50
P. stylirostris	MED+algae	65% to PL7
P. vannamei	Microcapsules+algae	80% to PL7

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชนิดสัตว์น้ำ	ชนิดของอาหาร	อัตรารอด
P. vannamei	MBD	47% to M1
P. vannamei	MED	97.3% PIII to mysis
P. vannamei	MED+algae	98.6% PIII to mysis
Macrobrachium rosenbergii	MED	84% from Z4 to PL1
M. rosenbergii	MBD	77.3% from Z5 to PL1
Palaemon elegans	Micro-granulated diets	49% from Z5 to PL1
Crangon nigricauda	Artemia-microcapsules	Non beyond ZII
Homarus gammarus	MBD	Non beyond stage III
Eurypanopeus depressus	Microcapsules+rotifers	83–93% to ML
Portunus trituberculatus	Microcapsules+rotifers	16.1% to juvenile
Scylla serrata	MBD+Artemia	66% from Z111–ZIV
S. serrata	MBD	90% from ML to C1

ที่มา: Holme et al. (2009)

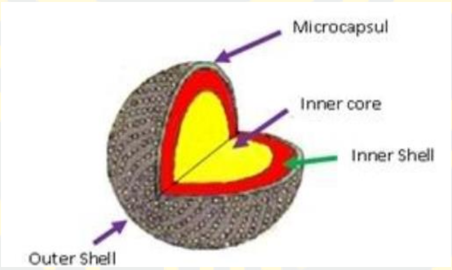
ในช่วงหลายปีที่ผ่านมามีการพัฒนาอาหารสำเร็จรูปขนาดเล็กขึ้นมาเพื่อใช้ทดแทนอาหารมีชีวิตสำหรับการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน โดยชนิดอาหารที่แตกต่างกัน และโภชนาการที่ได้รับแสดงให้เห็นถึงข้อจำกัดในการแทนที่อาหารมีชีวิต อาหารสำเร็จรูปขนาดเล็กเป็นเทคนิคที่ช่วยให้การผลิตอนุภาคที่เสถียรภาพ เพื่อป้องกันสารอาหารที่มากเกินไป และควบคุมคุณภาพน้ำที่จะตามมา โดยพบว่าอาหารสำเร็จรูปขนาดเล็ก Microencapsulated diet เป็นอีกทางเลือกที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนได้ (Yufera et al., 2005) เนื่องจากต้นแบบของอาหารไมโครแคปซูลเลทค่อนข้างเสถียร และมีโครงสร้างของอนุภาคที่มีความเหมาะสม (ภาพที่ 20)



ภาพที่ 20 ลักษณะโครงสร้างอาหาร Micro-encapsulated (MED) และ Microbound (MBD)
ที่มา: Holme et al. (2009)

ไมโครเอนแคปซูเลชัน

ไมโครเอนแคป หมายถึง กระบวนการที่ของเหลวหรือนุภาค หรือเรียกว่าสารแกนกลาง (Core) เช่น ยา วิตามิน สารออกฤทธิ์ ถูกห่อหุ้มอยู่ในรูปแคปซูลด้วยพอลิเมอร์หรือสารห่อหุ้ม (Shell) เช่น โปรตีนไฮโดรเลท ฟอสโฟลิพิด สารห่อหุ้มเหล่านี้จะเป็นตัวป้องกันสารสำคัญหรือสารแกนกลาง หรือเป็นกลุ่มสารที่มีกลไกการปลดปล่อยสารสำคัญออกมาตามที่เราต้องการ โดยผลิตออกมาในรูปแบบของไมโครแคปซูลนี้มีขนาดตั้งแต่ 1 ไมโครเมตร จนถึงขนาด 5 มิลลิเมตร (กัตติกา แก้วขาว, 2555; บัณฑิต พรหมรักษา, จุรีรัตน์ ดาดวง, เตือนจิต คำพิทักษ์, ประณิธิ หงสประภาส และพัชรี บุญศิริ, 2557; Agnihotri, Mishra, Goda and Arora 2012) นอกจากเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชัน จะมีประโยชน์ด้านห่อหุ้มสารที่สำคัญได้แล้ว (ภาพที่ 21) ยังมีคุณสมบัติช่วยในการเก็บรักษาสารที่มีความไวต่อสิ่งแวดล้อม เช่น แสง อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง ความชื้น ออกซิเจน เป็นต้น สารที่เสื่อมสภาพเร็ว สารที่ถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย ให้มีความคงตัวดีขึ้นและเก็บรักษาได้นาน ป้องกันการระเหยได้ง่าย รวมทั้งยังสามารถควบคุมการปลดปล่อยสารเหล่านี้ไปยังบริเวณที่ต้องการและปริมาณที่เหมาะสม และไมโครเอนแคปซูเลชันเป็นลักษณะแคปซูลที่มีขนาดเล็ก ง่ายต่อการกินและนำไปใช้ในร่างกาย มีความสะดวกต่อการนำไปใช้งาน (Agnihotri et al., 2012; Nesterenko, Alric, Silvestre and Durrieu, 2013; Umer, Nigam and Tamboli, 2011)



ภาพที่ 21 ลักษณะโครงสร้างของไมโครเอนแคปซูล
ที่มา: Sailaja and Jyothika (2015)

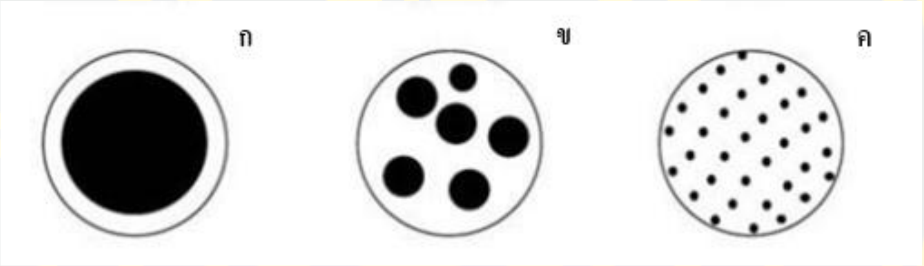
นอกจากนี้ ยังพบว่าไมโครเอนแคปซูเลชัน มีหลายรูปแบบ ซึ่งมีรายละเอียด ดังนี้

1. แบบ Single core, True encapsulation, Mononuclear เป็นรูปแบบของกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย (ภาพที่ 22 ก) โดยอาศัยหลักการการเปลี่ยนแปลงสภาวะการละลายของระบบคอลลอยด์ หรือ Coacervation-phase separation ประกอบด้วยวัฏจักรของสารแก่น (Core) และสารห่อหุ้ม (Shell) ทำให้สารห่อหุ้มสารแก่นไว้ โดยผ่านกระบวนการ 1) การก่อตัวของของเหลวที่ไม่เข้ากัน และสารแก่นสาร 2) การก่อตัวของพอลิ

เมอร์ที่ใช้ในการหุ้มสารแก่น ทำให้เกิด 3) การห่อหุ้มเป็นผนังไมโครแคปซูล (ใช้พอลิเมอร์ที่มีประจุตรงข้ามกันทำปฏิกิริยากันจนเกิดเป็นผนังหุ้มสารแก่น) (กัมปนาท หวลบุตตา และธนิกานต์ แสงนิ่ม , มปป; กัตติกา แก้วขาว, 2555; Agnihotri et al., 2012)

2. แบบ Multi-wall, Control release, Polynuclear เป็นรูปแบบของกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันของสารที่ให้กลิ่นรส โดยอาศัยการควบคุมการปลดปล่อยสารให้มีกลิ่นหรือรสได้ตามต้องการ ผ่านเทคนิค Fluidized bed หรือ Centrifugal coating (กัตติกา แก้วขาว, 2555; Agnihotri et al., 2012) (ภาพที่ 22 ข)

3. แบบ Multi-core, Matrix encapsulation เป็นรูปแบบของเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันของสารที่ให้กลิ่นรสในระดับโรงงานอุตสาหกรรม อาศัยเทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย การสเปรย์ การเอ็กซ์ทรูชัน เป็นต้น (ภาพที่ 22 ค)



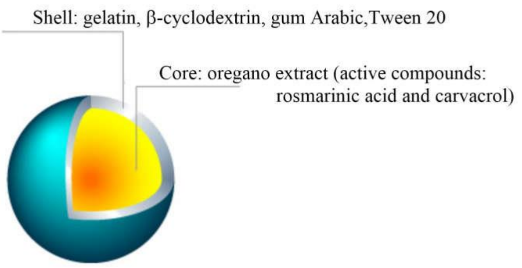
ภาพที่ 22 รูปแบบของไมโครแคปซูล; Single core ก, Multi-wall ข และ Matrix encapsulation ค
ที่มา: Sailaja and Jyothika (2015)

องค์ประกอบของไมโครเอนแคปซูล

โครงสร้างของไมโครแคปซูล ประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก (ภาพที่ 23) คือ

1. **สารที่ถูกห่อหุ้ม** (coated) เรียกว่า แกนกลาง (core หรือ active หรือ load หรือ internal phase) ส่วนใหญ่มักเป็นของเหลวหรือของแข็ง บางครั้งอาจเป็นอนุภาคของก๊าซ ซึ่งจะมีชื่อเรียกแตกต่างกันออกไป เช่น core material หรือ internal phase เช่น วิตามินต่าง ๆ เกลือแร่ ยารักษาโรค ยาฆ่าแมลง เป็นต้น ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้จะเป็นตัวช่วยในการออกแบบและพัฒนาคุณสมบัติของสารห่อหุ้มให้มีประสิทธิภาพในการใช้ (Chein and Novir, 1996)

2. **สารที่ใช้ห่อหุ้ม** มักมีผนังบาง ๆ เรียกว่า shell หรือ wall หรือ carrier หรือ coating material หรือ membrane ซึ่งมีความสำคัญในการกำหนดให้ไมโครแคปซูลมีคุณสมบัติตามที่ต้องการ



ภาพที่ 23 โครงสร้างของไมโครแคปซูล
ที่มา: Baranauskaite, Dalia and Jurga (2019)

โดยชนิดสารห่อหุ้มเพื่อใช้ในการเคลือบสารแก่น จะทำหน้าที่ปกป้องสารที่สำคัญ มีกลไกการปลดปล่อยสารที่สำคัญแตกต่างกันขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง ชนิดของเอนไซม์ และความดัน ควรเลือกชนิดสารห่อหุ้มที่มีความเหมาะสมทั้งทางกายภาพ และทางเคมี มีคุณสมบัติ เช่นมีความยืดหยุ่น มีความแข็งแรงเพียงพอ มีความหนืดต่ำเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นของแข็ง และไม่ชื้นง่าย ความไม่เสถียร ความเสถียร คุณสมบัติทางแสงที่แตกต่างกัน ควรเป็นสารที่เข้ากันได้ทางเคมีกับแกนกลาง และไม่ทำปฏิกิริยากับสารแกนกลาง และควรมีสามารถในการขึ้นรูปที่ดี สามารถแผ่เป็นแผ่นฟิล์มบางๆ ได้ ความหนาของผ่าฟิล์มสามารถเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นอยู่กับลักษณะทางกายภาพอื่น ๆ สารหุ้มหรือสารเคลือบที่นิยมใช้ในกระบวนการเคลือบระหว่างกระบวนการเอนแคปซูเลชันขึ้นอยู่กับคุณสมบัติ (Shekhar and Naga, 2010) (ตารางที่ 7) ดังนี้

2.1 ชนิดของสารหุ้มขึ้นอยู่กับชนิดของการละลาย ได้แก่

2.1.1 กลุ่มสารเคลือบที่ละลายน้ำ เช่น Gelatin, Starch, Polyvinylpyrrolidone และ Hydroxyethyl cellulose

2.1.2 กลุ่มสารเคลือบที่ไม่ละลายน้ำ เช่น Ethylcellulose, Polyethylene, Polymethacrylate, Polyamide (Nylon), Poly (Ethylene Vinyl acetate), Silicones, cellulose nitrate, Poly lactideco glycolide

2.1.3 กลุ่มสารเคลือบแบบไข เช่น Paraffin, Carnauba, Spermaceti, Beeswax, Stearic acid, Stearyl alcohol, Glyceryl stearates

2.1.4 กลุ่มสารเคลือบอื่น ๆ เช่น Shellac, Cellulose acetate phthalate, Zein

2.2 ชนิดของสารหุ้มจากธรรมชาติ ได้แก่

2.2.1 สารกลุ่มโปรตีน เช่น Albumin, Gelatin, Collagen

2.2.2 สารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต เช่น Agarose, Chitosan, Starch, Carragenan, Alginate, Gum Arabic, Maltodextrin

2.2.3 สารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่มีการดัดแปลงทางเคมี เช่น polystarch, Polydextran

2.3 ชนิดของสารหุ้มจากการสังเคราะห์โพลีเมอร์ ได้แก่

2.3.1 กลุ่มสารเคลือบที่ย่อยสลายได้ เช่น Lactides, Glycolides และ co polymers, Poly alkly cyanoacrylates, Poly anhydrides

2.3.2 กลุ่มสารเคลือบที่ย่อยสลายไม่ได้ เช่น poly methyl methacrylate (PMMA), Acrolein, Glycidyl methacrylate, Epoxy poltmers

ตารางที่ 7 ชนิดของสารหุ้ม เพื่อใช้ในการเคลือบสารแก่น ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติ

1. ชนิดของสารหุ้มขึ้นอยู่กับชนิดของการละลาย			
สารที่ละลายน้ำ	**สารที่ไม่ละลายน้ำ**	**สารเคลือบแบบไข**	**อื่น ๆ**
Gelatin	Ethylcellulose	Paraffin	Shellac
Starch	Polyethylene	Bees wax	Cellulose acetate phalate
Polyvinylpyrrolidone	Polyamide	Strearic acid	Zein
Hydroxyethyl cellulose	Polymethacrylate (บางกลุ่ม)	Stearyl alcohol	
Gum Arabic	Polymethacrylate	Glyceryl stearates	
Carboxymethyl cellulose	Poly lactideco glycolide	Carnauba	
Methylcellulose	Silicones	Spermaceti	
Arabinogalactan	Cellulose nitrate		
Polyvinyl alcohol	Poly (Ethylene Vinyl acetate)		
Polyacrylic acid			

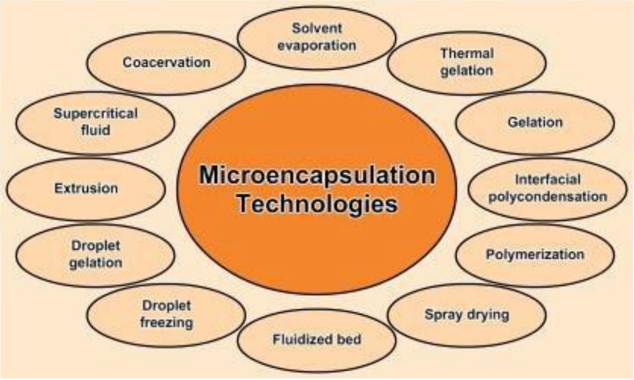
2. ชนิดของสารหุ้มจากธรรมชาติ		
สารกลุ่มโปรตีน	**สารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต**	**สารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่มีการดัดแปลงทางเคมี**
Albumin	Agarose	polystarch
Gelatin	Chitosan	Polydextran
Collagen	Starch	
	Carragenan	

ตารางที่ 7 (ต่อ)

3. ชนิดของสารหุ้มจากการสังเคราะห์โพลีเมอร์	
กลุ่มสารเคลือบที่ย่อยสลายได้	**กลุ่มสารเคลือบที่ย่อยสลายไม่ได้**
Lactides	poly methyl methacrylate (PMMA)
Glycolides และ co polymers	Acrolein
Poly alkly cyanoacrylates	Glycidyl methacrylate
Poly anhydrides	Epoxy poltmers

กระบวนการผลิตไมโครเอนแคปซูเลชันแบบต่าง ๆ

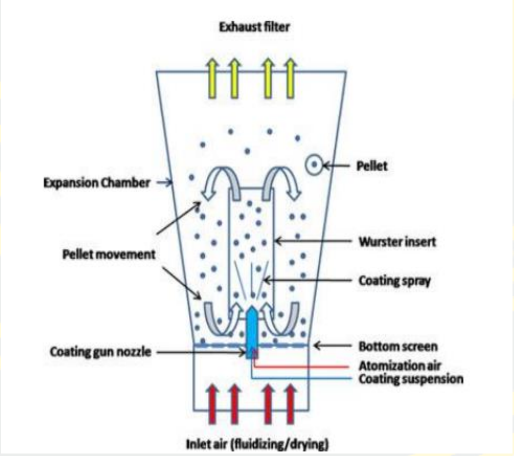
เทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันแบบต่าง ๆ สามารถเตรียมไมโครแคปซูลได้ทั้งขนาดและลักษณะที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสาร ความเสถียรภาพ การสังเคราะห์ การควบคุมขนาดของอนุภาค การกระจาย และความไวต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เป็นต้น ซึ่งสามารถแบ่งเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันได้ 2 ประเภทคือ วิธีการผลิตไมโครแคปซูลทางกายภาพ (Physical method) และวิธีการผลิตไมโครแคปซูลทางเคมี (Chemical method) แต่ละเทคนิค (ภาพที่ 24) จะมีความเหมาะสมได้จากสารเคลือบและสารสำคัญบางชนิด การเลือกเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันเป็นขั้นตอนสำคัญในการกำหนดลักษณะของไมโครแคปซูล ดังนี้



ภาพที่ 24 เทคนิคการผลิตไมโครแคปซูลแบบต่าง ๆ
ที่มา: Agnihotri et al. (2012)

1. วิธีการผลิตไมโครแคปซูลทางกายภาพ (Physical method)

1.1 Air Suspension คือกระบวนการกระจายอนุภาคของแกนกลางที่เป็นของแข็ง ด้วยการพ่นสารเคลือบในอากาศภายในห้องเคลือบผิวอนุภาค โดยอาศัยแรงดันของอากาศพัดขึ้นด้านบนของถังเคลือบ ในระหว่างการเคลือบวัสดุหลักกระแสอากาศจะทำให้วัสดุแห้งเกิดการแข็งตัวจากการระเหย กระบวนการเคลือบวนซ้ำไปซ้ำมาในขณะที่กำลังห่อหุ้ม ทำให้เกิดความหนาแน่นของการเคลือบที่ต้องการ และสม่ำเสมอ ก่อให้เกิดไมโครแคปซูล อัตราการอบแห้งจะสัมพันธ์กับอุณหภูมิ การเคลือบด้วยวิธีนี้สามารถแก้ปัญหาในการควบคุมความยืดหยุ่นที่ดีขึ้น อนุภาคที่ต้องการเคลือบจะถูกเคลือบในขณะที่ลอยอยู่ในอากาศภายในห้องอบแห้งด้วยความเร็วสูง (ภาพที่ 25) สารเคลือบจะถูกพ่นฝอยผ่านหัวฉีดเคลือบอนุภาค ทำให้เกิดเป็นแผ่นฟิล์มรอบๆ ละอองของสารเคลือบจะกระจายสะสมอยู่บนอนุภาค ส่วนผสมของตัวทำละลายจะระเหยโดยอากาศร้อน และสารเคลือบจะเคลือบผิวของอนุภาค เทคนิคนี้อนุภาคไมโครแคปซูลที่ได้จะมีขนาดค่อนข้างใหญ่ 30 - 10,000 ไมโครเมตร (Agnihotri et al., 2012)



ภาพที่ 25 กระบวนการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยวิธี Air Suspension
ที่มา: Jabeen, Begum, Siddique and Fatima (2016)

1.2. Coacervation phase separation เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายและยาวนาน ใช้ในปรากฏการณ์การเกิดคอลลอยด์ เป็นการแก้ปัญหาคอลลอยด์ในตัวทำละลายที่เหมาะสม ทำให้สารหุ้มแข็งตัวและหุ้มสารแก่นไว้ อาศัยการแตกตัวของประจุพอลิเมอร์จากการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง ทำให้เกิดการจับกันของประจุขั้วที่แตกต่างกันด้วยแรงทางไฟฟ้า เกิดเป็น

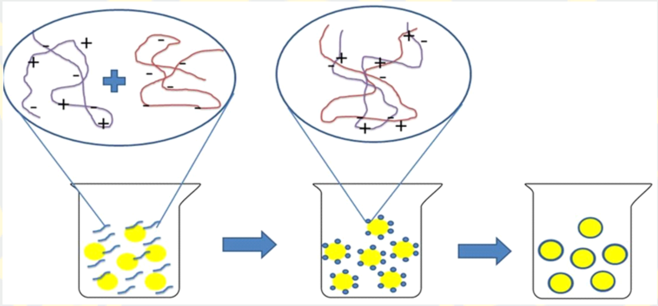
coacervative wall โครงสร้างมีลักษณะเป็นแบบแกนกลางเดียว มีขนาด 30 - 800 ไมโครเมตร (Barrow, Nolan and Holub, 2009; Guo, 1994)

ขั้นตอนการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยเทคนิค Coacervation phase separation มี 3 ขั้นตอน (ภาพที่ 26) ดังนี้

1. ขั้นตอนการผลิตของเหลว เป็นการกระจายสารละลายที่เป็นตัวทำละลายพอลิเมอร์ เพื่อแก้ปัญหาในขั้นตอนการเคลือบ ขั้นตอนการเคลือบพอลิเมอร์ในของเหลวเกิดขึ้นจากการแลกเปลี่ยนอุณหภูมิ จากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของสารละลายพอลิเมอร์ โดยการเพิ่มสารละลายหรือการสร้างปฏิกิริยาระหว่างพอลิเมอร์

2. การเคลือบพอลิเมอร์เหลวบนวัสดุแกนกลาง เกี่ยวข้องกับการสะสมของการเคลือบพอลิเมอร์เหลวบนวัสดุแกนกลาง โดยการควบคุมสารเคลือบเหลว และวัสดุแกนกลางในขั้นตอนการผลิต พอลิเมอร์เคลือบเหลวจะเกาะติดกับวัสดุหลัก

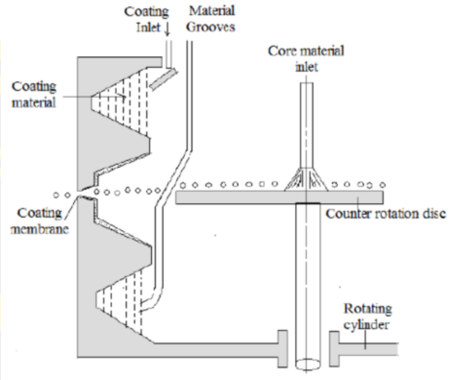
3. การแข็งตัวของวัสดุเคลือบ การทำวัสดุเคลือบให้แข็งโดยเทคนิคความร้อนกลายเป็นผนังของไมโครแคปซูล



ภาพที่ 26 กระบวนการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยวิธี Coacervation phase separation
ที่มา: บัณฑิต พรหมรักษา และคณะ, 2557

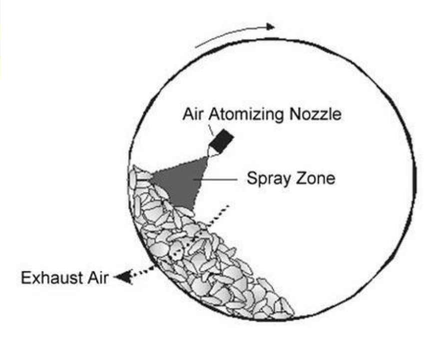
1.3 Centrifugal extrusion การอัดขึ้นรูปด้วยแรงเหวี่ยงเป็นอีกเทคนิคที่ได้รับความนิยมและใช้โดยผู้ผลิตบางราย กระบวนการนี้เหมาะสำหรับเคลือบของเหลวหรือสารละลาย เป็นการเคลือบของเหลวโดยใช้หัวฉีดแบบหมุนซึ่งมีหัวฉีดแบบผ่านศูนย์กลาง ของเหลวจะถูกล้อมรอบด้วยสารละลายผ่านอากาศแตกออกเป็นแกนกลาง เกิดการแข็งตัวเคลือบผนังของเหลวทันทีในขณะฉีดหัวสเปรย์ (ภาพที่ 27) อัตราการผลิตสูง ไมโครแคปซูลที่ได้จากการผลิตด้วยเทคนิคนี้จะมีขนาด 150 - 2,000 ไมโครเมตร ปัจจัยที่มีผลต่อขนาดของไมโครแคปซูล คือ 1) ความเข้มข้น ความหนืด แรงตึงผิวของสารที่ใช้ห่อหุ้ม และสารแกนกลาง 2) ความเร็วของจานในการหมุน และ 3) อัตราการ

ไหลของสารห่อหุ้มและวารแกนกลาง เป็นเทคนิคที่ใช้ห่อหุ้มผลิตภัณฑ์ เช่น กลิ่น รส เครื่องปรุงรส และวิตามิน วัสดุเคลือบได้แก่ เจลาติน โซเดียมอัลจิเนต คาราจีแนน กรดไขมัน และโพลีเอทิลีน เป็นต้น (Goud and Park, 2005)



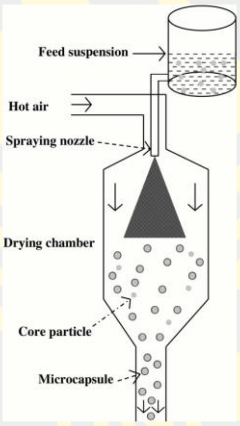
ภาพที่ 27 กระบวนการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยวิธี Centrifugal extrusion
ที่มา: กัมปนาท หวลบุตตา และธนิกานต์ แสงนิ่ม (มปป.)

1.4 Pan coating เป็นหนึ่งในวิธีที่เก่าแก่ที่สุดในอุตสาหกรรมยา ใช้สำหรับเคลือบยาเม็ด โดยการเคลือบในหม้อเคลือบ วิธีการนี้อนุภาคแกนกลางที่เป็นของแข็งจะเคลื่อนที่อย่างอิสระในหม้อเคลือบ จะถูกเคลือบอย่างช้าๆ ในขณะที่มีการเติมสาร หรือฉีดพ่นสารเคลือบ เพื่อให้สารเคลือบมีการกระจายและยึดเกาะผนังของสารแกนกลางอย่างทั่วถึง สารเคลือบจะแข็งตัวห่อหุ้มอนุภาคแกนกลางไว้ เนื่องจากตัวทำละลายในสารที่ใช้สำหรับเคลือบค่อยๆ ระเหย (ภาพที่ 28) ไมโครแคปซูลที่ได้จะมีขนาดมากกว่า 600 ไมโครเมตร (Khawla, Abu, Lucila and Robert, 1996)



ภาพที่ 28 กระบวนการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยวิธี Pan coating
ที่มา: Khawla et al. (1996)

1.5 Spray-drying เทคนิคการพ้นแห้งและการพ่นเย็นแบบพ่นฝอย เป็นการนำสารแกนกลางที่จะทำการเคลือบที่มีสารกระจายหรืออยู่ในสารละลายพอลิเมอร์ให้อยู่ในอนุภาคแห้ง และฉีดเข้าไปในห้องร้อนที่มีอุณหภูมิ 100-160 °C เพื่อให้สารเคลือบแข็งตัวเคลือบอนุภาค โดยเกิดการระเหยของตัวทำละลาย หรือเกิดการแข็งตัวของสารเคลือบจากห้องเย็นในระหว่างทำแห้ง ทำให้สาระสำคัญถูกเคลือบไว้ในสารเคลือบ โดยปกติจะอยู่ในน้ำมันหรือสารออกฤทธิ์ซึ่งไม่ละลายน้ำ เป็นสารละลายที่มีความเข้มข้น ไมโครแคปซูลจะถูกพัดออกมาด้วยอากาศ และตกลงมายังส่วนที่เก็บผลิตภัณฑ์ (ภาพที่ 29) ข้อดีของเทคนิคนี้ คือ ความสามารถในการจัดการกับวัสดุที่ใช้ง่าย เนื่องจากมีระยะเวลาที่สั้น ใช้กับสารที่ไม่คงตัวได้ สามารถใช้ spray congealing ได้ถ้าสารคงตัวไม่มากในความร้อน สารที่ใช้ในการเคลือบด้วยเทคนิคนี้ควรเป็นสารที่มีความหลอมเหลวที่อุณหภูมิใกล้เคียงอุณหภูมิห้องจึงจะเหมาะสม ลักษณะของไมโครแคปซูลขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในการทำแห้ง ความเร็วระหว่างการฉีดพ่น แรงดันอากาศ และความหนืดของสารแกนกลางและสารเคลือบ โดยจะมีขนาดประมาณ 10 - 150 ไมโครเมตร (Khawla et al., 1996)

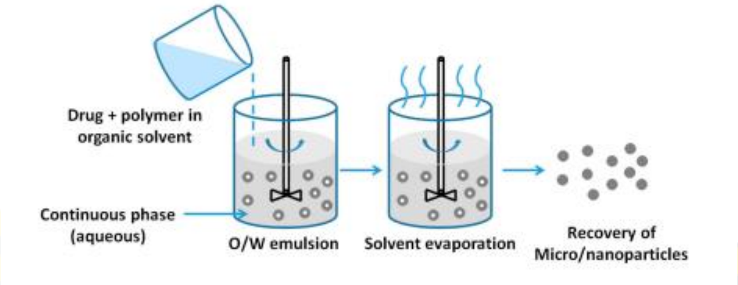


ภาพที่ 29 กระบวนการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยเครื่อง Spray-dryer
ที่มา: Khawla et al. (1996)

2 วิธีการผลิตไมโครแคปซูลทางเคมี (Chemical method)

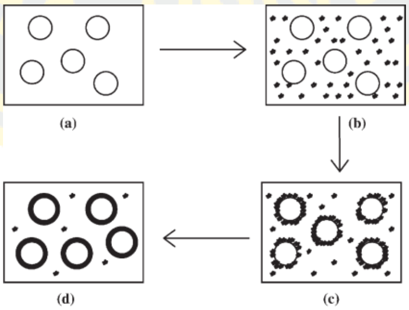
2.1 Solvent evaporation วิธีนี้ใช้อย่างแพร่หลายสำหรับวัสดุแกนกลางหลักที่สามารถละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ อาจจะอยู่ในรูปของเหลวและของแข็งที่หลากหลาย เช่น ผงแห้ง สารแขวนลอยตะกอนก็ได้ สามารถใช้สารเคลือบฟิล์มหรือพอลิเมอร์ได้หลากหลาย โดยสารเคลือบพอลิเมอร์สามารถละลายได้ในตัวทำละลายสารอินทรีย์ อาศัยหลักการระเหยของตัวทำละลาย หรือการกระจายตัวของสารละลายพอลิเมอร์เคลือบแข็งตัว และห่อหุ้มสารแกนกลางไว้ (ภาพที่ 30)

เพื่อให้ได้ไมโครแคปซูลที่เหมาะสมต้องอาศัยการกวนอย่างต่อเนื่องจากการให้แรงปั่นผสม หรือแรงสั่นสะเทือน หรือการใช้ความร้อนภายนอก (Jain, 2002)



ภาพที่ 30 กระบวนการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยวิธี Solvent evaporation
ที่มา: Wang, Puwang, Thao, Juan and Lingxue (2016)

2.2 Polymerization ปฏิกิริยาระหว่างพอลิอิเล็คโตรไลท์ที่มีประจุตรงข้ามกันส่งผลให้เกิดการสร้างที่ซับซ้อนขึ้น ความสามารถในการละลายลดลงเป็นสาเหตุในการแตกแยก เปลือกของพอลิเมอร์จะเคลือบสารแกนกลางไว้โดยเกิดจากปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันโมโนเมอร์หรือโพลิเมอร์สายสั้นที่บริเวณผิวของไมโครแคปซูล (ภาพที่ 31) โมโนเมอร์ที่ใช้โดยทั่วไป ได้แก่กลุ่ม isocyanates และ acid chlorides จะใช้เพียงชนิดเดียวหรือใช้รวมกันก็ได้ โดยเตรียมจากการละลายโมโนเมอร์ในวัสดุแกนกลางที่เป็นของเหลวกระจายอยู่ จากนั้นเติมสารในกลุ่มเอมีนเพิ่มลงในส่วนผสม ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันเร็วขึ้น เพื่อสร้างเปลือกหรือผนังไมโครแคปซูลที่เป็นสาร polyurethane ทำให้ได้ไมโครแคปซูลที่มีการกระจายของอนุภาคต่ำ และมีขนาดเล็ก



ภาพที่ 31 กระบวนการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยวิธี Polymerization (a) การกระจายตัวของวัสดุแกนกลางในสารละลายพอลิเมอร์ (b) การแยก coacervate จากสารละลาย (c) การเคลือบวัสดุแกนกลาง (d) การรวมตัวของ coacervate เพื่อสร้างวัสดุเคลือบรอบอนุภาค
ที่มา: Jabeen et al. (2016)

บทบาทของไมโครเอนแคปซูเลชัน และการประยุกต์ใช้ในด้านต่าง ๆ

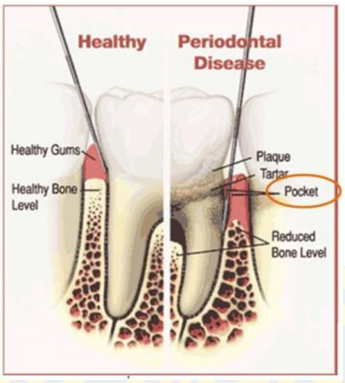
ปัจจุบันมีการนำเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันมาประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวาง ทั้งในด้านการแพทย์ อุตสาหกรรมอาหาร สิ่งทอ และด้านเกษตรกรรม วิธีการผลิตไมโครแคปซูลมีทั้งวิธีทางกายภาพ และทางเคมี มีการพัฒนาเทคนิคอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการนำไปใช้ดียิ่งขึ้น กระบวนการนี้มีประโยชน์ในการคงตัวของสารตลอดการใช้งาน ช่วยในการห่อหุ้มหรือเคลือบสารต่าง ๆ ที่มีความไวต่อแสง ความร้อน ออกซิเจน สารที่ถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย ไม่ทนต่อความเป็นกรดด่าง และอุณหภูมิ เป็นต้น เช่น วิตามินเอ และวิตามินเคจะได้รับการป้องกันจากความชื้นและออกซิเจนโดยใช้ไมโครเอนแคปซูเลชัน เป็นต้น ยังช่วยให้สารดังกล่าวเก็บรักษาได้ยาวนานมีความเสถียร คงตัว สะดวกต่อการนำไปใช้งาน ป้องกันการระเหยของสาร ลดการทำปฏิกิริยากันของสารผสม และยังช่วยลดการสิ้นเปลืองของสารได้อีกด้วย (Jackson and Lee, 1991) ตัวอย่างการนำไปใช้งานในด้านต่าง ๆ ดังนี้

1. ด้านการแพทย์ มีการประยุกต์ใช้เทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันในทางการแพทย์มาเป็นเวลานาน เพื่อใช้ในการรักษาและป้องกัน เช่น

1.1 โรคมะเร็ง เนื่องจากการรักษาโรคมะเร็งจำเป็นต้องใช้ยา 5-fluorouracil (5-FU) ในการรักษามะเร็งลำไส้ ซึ่งเป็นยาที่ไวต่อความเป็นกรดด่าง เมื่อยาเข้าสู่ร่างกายโดนสภาวะเป็นกรดในระบบทางเดินอาหาร ทำให้ไม่สามารถกำหนดปริมาณยากับขนาดและตำแหน่งของเซลล์ได้อย่างถูกต้อง จึงต้องอาศัยเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันมาทดลองโดยนำยาดังกล่าวมาห่อหุ้มด้วย polylactide/poly (lactideco-glycolide) หรือ PLGA ช่วยในการกำหนดและควบคุมปริมาณยาที่ใช้ในการรักษาได้อย่างเหมาะสมและถูกต้อง

1.2 โรคหัวใจและหลอดเลือด วิตามินเอ และวิตามินอี เป็นสารธรรมชาติที่ช่วยในการป้องกันและรักษาโรคดังกล่าวได้ แต่เนื่องจากมักถูกออกซิไดซ์จากอากาศได้ง่าย การใช้เทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันช่วยเพิ่มประสิทธิภาพทนต่อสภาพแวดล้อมและอุณหภูมิได้ดี Roma-Hualde, Widanarni and Sukenda (2012) ได้ทำการศึกษาไมโครเอนแคปซูเลชันในการห่อหุ้มวิตามินอีจากพริกแดง และน้ำมันตับปลาทำให้ช่วยลดการออกซิไดซ์ได้ดีขึ้น เพิ่มประสิทธิภาพในการลดไขมันในเลือด และทำให้เก็บรักษาได้ยาวนานและคงทนขึ้น

1.3 โรคติดเชื้อ เป็นโรคที่ต้องรักษาโดยใช้ยาต้านจุลชีพ หากให้ยาในปริมาณและเวลาที่ไม่เหมาะสมจะทำให้เกิดการดื้อยา จึงจำเป็นต้องใช้ประโยชน์จากไมโครแคปซูลในการแก้ปัญหา เพิ่มประสิทธิภาพในการปลดปล่อยยาปฏิชีวนะได้นานและดีขึ้น ลดการใช้แกนกลางและลดผลข้างเคียงได้เมื่อเปรียบเทียบกับการรักษาแบบทั่ว ๆ ไป (ภาพที่ 32)



ภาพที่ 32 การใช้ไมโครเอนแคปซูลในการรักษาโรคติดเชื้อในฟัน
ที่มา: บัณฑิต พรหมรักษา และคณะ (2557)

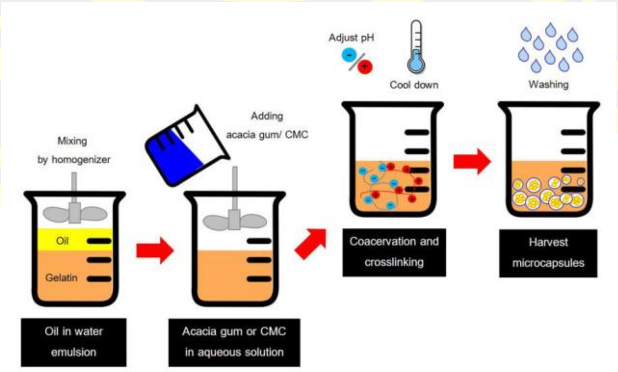
2. ด้านเภสัชศาสตร์ มีการนำเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตยาและวัคซีนอย่างแพร่หลาย เนื่องจากแคปซูลยาจะช่วยป้องกันสารสำคัญในตัวยา สามารถพัฒนาการปลดปล่อยตัวยาออกมาทำงานได้ยาวนานขึ้นในเวลาที่ต้องการ และตรงกับอวัยวะเป้าหมายที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์ เช่นหากมีการให้ยาแอสไพรินในปริมาณมากครั้งเดียวส่งผลต่อกระเพาะอาหารทำให้เกิดแผล และมีเลือดออก การทำให้เป็นไมโครแคปซูลจะช่วยให้ตัวยาค่อย ๆ ปล่อยออกมา ช่วยลดการเกิดแผลในกระเพาะอาหารได้ (เอกลักษณ์ ทวีโรจนกุล, 2552)

3. ด้านอุตสาหกรรมอาหาร มีการนำเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันมาใช้ในอาหารหลายชนิด เพื่อใช้ในการห่อหุ้ม รักษาส่วนผสม และคุณสมบัติของสารอาหาร ให้มีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น และมีความเสถียรมากขึ้น เนื่องจากสารบางชนิด เช่น สารให้กลิ่นรส สีผสมอาหาร จะมีการระเหยได้ง่าย ไม่ทนต่อกรดด่าง อุณหภูมิ ความร้อน ถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย และอาจสูญเสียคุณสมบัติในระหว่างกระบวนการผลิต เช่น วิตามินอี วิตามินซี มีความไวต่อออกซิเจนและแสงสว่างทำให้สูญเสียไปในระหว่างที่ปรุงหรือถนอมอาหาร (Jackson and Lee, 1991) ผลิตภัณฑ์ที่นิยมใช้เทคนิคนี้ เช่น หมากฝรั่ง ต้องการให้มีรสชาติอยู่นานขึ้นขณะที่เคี้ยว

4. ด้านอาหารสัตว์น้ำ การพัฒนาอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในระยะยาวมีความจำเป็นต้องใช้เทคโนโลยีในการผลิต และกระบวนการที่มีประสิทธิภาพ การพัฒนาความเชี่ยวชาญทั้งในด้านชีววิทยา และวิศวกรรมกระบวนการในการเพาะเลี้ยงเป็นสิ่งจำเป็น การจัดหาอาหารราคาถูกที่เชื่อถือได้ และมีคุณค่าทางโภชนาการเป็นสิ่งสำคัญ ได้มีการนำเทคโนโลยีไมโครเอนแคปซูเล

ชันมาใช้ในการผลิตอาหารสัตว์น้ำ ได้อนุภาคอาหารที่มีศักยภาพช่วยในการพัฒนาตัวอ่อน ข้อได้เปรียบของอาหารขนาดเล็กเหล่านี้แตกต่างจากอาหารมีชีวิต ในเรื่องของขนาด และองค์ประกอบของอาหาร สามารถปรับให้เหมาะสมได้ตามความต้องการชนิดตัวอ่อนที่เลี้ยง (Holme et al. 2009)

5. ด้านบรรจุภัณฑ์ รัชฎาพร ใจมั่น และณัฐพงศ์ กันหา (2561) มีการนำนวัตกรรมไมโครเอนแคปซูเลชันมาใช้สร้างความแตกต่างบนบรรจุภัณฑ์ เพื่อห่อหุ้มกลิ่นให้อยู่ในรูปไมโครแคปซูล เป็นการชะลอการสูญเสียกลิ่น ควบคุมการปลดปล่อยกลิ่นให้ได้ตามต้องการ และเป็นการนำไปประยุกต์ใช้ในงานให้ง่ายขึ้น ซึ่งเป็นหนึ่งในกลยุทธ์ทางการตลาดที่จะช่วยกระตุ้นความสนใจจากผู้บริโภค โดยการเพิ่มมิติแห่งการสัมผัสผลิตภัณฑ์ภายในบรรจุภัณฑ์ และความสนใจในกลิ่นหอมของผลิตภัณฑ์เพื่อเป็นการดึงดูดใจให้ผู้บริโภค ได้ทำการศึกษาผลของสารห่อหุ้มพีเอช และอัตราส่วนสารแกนต่อสารห่อหุ้มที่มีต่อการผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มด้วยวิธีคอมเพล็กซ์โคอะเซอร์เวชัน เพื่อประยุกต์ใช้เคลือบเฉพาะจุดบนบรรจุภัณฑ์อาหาร โดยใช้สารห่อหุ้ม 3 ชนิด คือ สารละลายเจลาติน สารละลายกัมอะคาเซีย และสารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส ผสมน้ำมันหอมระเหยลงไปในเจลาติน ปั่นให้เกิดเป็นอิมัลชัน ต่อด้วยเครื่องกวนแบบใช้แม่เหล็ก ปรับอุณหภูมิเป็น 40 °C ค่อยๆ เติมสารละลายกัมอะคาเซีย หรือสารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสลงไป ปรับพีเอชให้ได้ค่าที่ต้องการ กวนต่อเนื่องเป็นเวลา 15 นาที แล้วลดอุณหภูมิโดยแช่ในอ่างน้ำแข็งให้ต่ำกว่า 10 °C ทิ้งไว้ 10 นาที จึงกรองแยกอนุภาคไมโครแคปซูลออกมา (ภาพที่ 33)



ภาพที่ 33 วิธีผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มด้วยวิธีคอมเพล็กซ์โคอะเซอร์เวชัน
ที่มา: รัชฎาพร ใจมั่น และณัฐพงศ์ กันหา (2561)

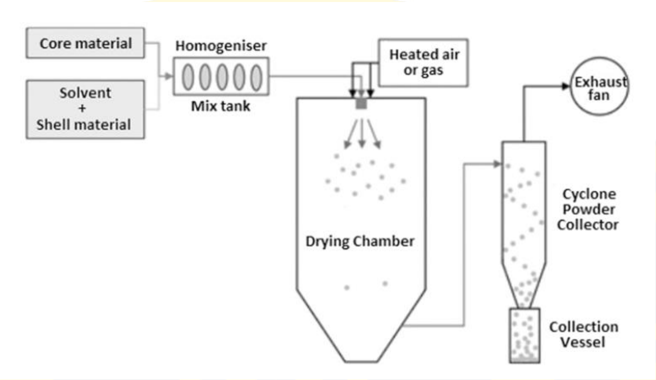
ผลการศึกษาพบว่า GE-CMC เป็นสารที่นำมาห่อหุ้มน้ำมันระเหยส้มที่ดี กระบวนการเอนแคปซูเลชันมีประสิทธิภาพสูงสุดเหมาะในการผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้ม และ

จากการศึกษาในครั้งนี้ก็จะนำไปต่อยอดผสมสารเคลือบลงบนกล่องคุกกี้ตามตำแหน่งที่ต้องการ เพื่อดึงดูดความสนใจให้ผู้บริโภคสัมผัสกลิ่นของสินค้าภายใน เมื่อถูผลิตภัณฑ์แล้วจะทำให้ผนังไมโครแคปซูลแตก จะได้กลิ่นจากผลิตภัณฑ์โดยไม่ต้องเปิดออก (ภาพที่ 34)

ภาพที่ 34 ตัวอย่างบรรจุภัณฑ์อาหารที่มีการเคลือบกลิ่นเฉพาะจุด
ที่มา: รัชฎาพร ใจมั่น และณัฐพงศ์ กันหา (2561)

4.6 ด้านอื่น ๆ ธีระวัฒน์ บุญโสม และเอกชัย คำเกลี้ยง (2561) ได้ทำการศึกษาการทำไมโครเอนแคปซูเลชันน้ำมันหอมระเหยโดยการพ่นแห้งต่อผลของส่วนประกอบของสารหุ้มและสภาวะการเตรียม เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยเป็นที่นิยมในตลาด มีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมของกลิ่น การแต่งกลิ่นอาหาร อุตสาหกรรมยา และเครื่องสำอาง แต่น้ำมันหอมระเหยมีข้อจำกัดเรื่องความไม่คงตัวต่อแสง ความร้อน อากาศ ความชื้น และยังสามารถระเหยได้ในอุณหภูมิของห้อง ส่งผลให้สูญเสียฤทธิ์และสภาพ จึงมีการนำเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันมาใช้เพื่อเป็นการเพิ่มความคงตัวให้กับน้ำมันหอมระเหยโดยใช้เทคนิคการพ่นแห้ง (ภาพที่ 35) โดยวิธีนี้จะเป็นการเคลือบสารที่มีสถานะต่าง ๆ เช่น ของเหลว ของแข็ง และก๊าซด้วยพอลิเมอร์ในรูปของไมโครแคปซูลขนาด 1 - 800 ไมโครเมตร ช่วยป้องกันการระเหยของน้ำมันหอมระเหยอย่างมีประสิทธิภาพ ไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และป้องกันการถูกทำลายจากความชื้น แสง ความร้อน และอากาศ พบว่ากระบวนการพ่นแห้งของน้ำมันหอมระเหยขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของสารที่นำมาห่อหุ้มและสภาวะในการผลิต คือ อัตราที่ใช้ในการป้อนควรอยู่ที่ระดับ 1 - 2 กิโลกรัมต่อชั่วโมง ความดัน 90-120 กิโลปาสกาล และอัตราการไหลของอากาศ 60-90 ลูกบาศก์เมตรต่อนาที อุณหภูมิร้อนขาเข้าและขาออก 150 - 200 องศาเซลเซียส และ 70-90 องศาเซลเซียส ตามลำดับ จากการศึกษาการทำน้ำมันหอมระเหยโดยใช้เทคนิคไมโครแคปซูเลชันแบบพ่นแห้งมีความจำเป็นเนื่องจากคุณสมบัติที่เป็นข้อเสียของน้ำมันหอมระเหยที่ไม่คงตัว การทำให้อยู่ในรูปไมโครแคปซูล

จะช่วยให้มีความคงตัวเพิ่มขึ้น ช่วยเปลี่ยนสถานะของน้ำมันหอมระเหยจากของเหลวให้เป็นของแข็งได้ เพิ่มประสิทธิภาพความปลอดภัยและความสะดวกในการขนส่ง ยืดระยะเวลาเก็บรักษาให้นานขึ้น และช่วยควบคุมการปลดปล่อยปฏิกิริยาทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่ดีขึ้น



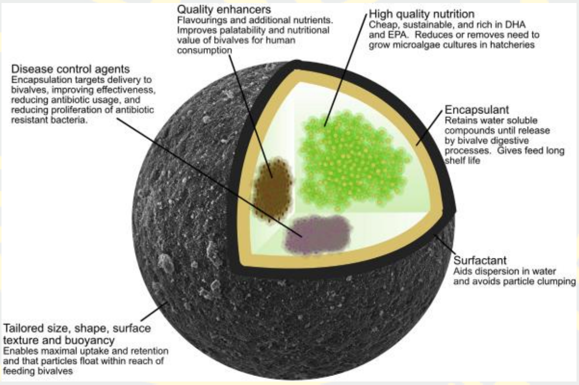
ภาพที่ 35 การทำไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยโดยใช้เทคนิคการพ่นแห้ง
ที่มา: Casanova and Santos (2012)

กรณีศึกษาการประยุกต์ใช้ไมโครเอนแคปซูเลชันในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

Yuferra et al. (1999) ได้พัฒนาและนำเทคโนโลยีไมโครเอนแคปซูเลชันมาใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน เนื่องจากการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนค่อนข้างมีข้อจำกัดในเรื่องของอาหาร โดยพบว่าอาหารที่ให้มีสารอาหารที่ไม่เพียงพอกับความต้องการในการเจริญเติบโต และพัฒนาการ อาหารที่ให้ส่วนใหญ่จะเป็นอาหารมีชีวิตซึ่งเลี้ยงด้วยโรติเฟอร์และอาร์ทีเมีย แต่การผลิตอาหารมีชีวิตเหล่านี้มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง ใช้เวลานาน มีการดูแลและการจัดการที่ซับซ้อน ในส่วนของคุณค่าทางอาหารยังขาดกรดไขมันที่จำเป็น และคุณค่าทางโภชนาการยังมีความแตกต่างกันทางสายพันธุ์และแหล่งที่อยู่อาศัย เพื่อให้เกิดความคุ้มค่าจึงมีการพัฒนาอาหารที่มีอนุภาคขนาดเล็กซึ่งให้สารอาหารที่เพียงพอต่อความต้องการของตัวอ่อน แต่เนื่องจากสารอาหารที่ให้ไม่มีความคงตัว และไม่ทนต่อสภาพแวดล้อม จึงต้องมีการนำเทคนิคไมโครแคปซูลมาใช้ เพื่อเป็นการห่อหุ้มสารอาหารเหล่านั้น และเป็นการรักษาความสมบูรณ์ของอนุภาคอาหารจนกว่าจะถูกใช้ รวมทั้งเป็นการป้องกันการชะล้างและการย่อยสลายของส่วนผสมทางโภชนาการในน้ำ และเป็นการกระตุ้นสารเคมีช่วยในเรื่องการย่อย และการยอมรับอาหารสำเร็จรูปต่อไป

Willer and Aldridge (2019) ได้ทำการศึกษาอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเพื่อใช้ในการปรับปรุงการเพาะเลี้ยงหอยสองฝา เนื่องจากพบปัญหาที่สำคัญในระหว่างการเลี้ยงหอยสองฝา คือ โรคและกำลังการผลิตที่จำกัด ความก้าวหน้าของเทคโนโลยีไมโครแคปซูลมีศักยภาพที่ดีในการ

จัดการกับปัญหาเหล่านี้ สามารถควบคุมสารอาหารให้มีคุณภาพ ควบคุมโรค และสามารถเพิ่มคุณค่าทางอาหารที่ใช้สำหรับเลี้ยงหอยสองฝาได้อย่างมีประสิทธิภาพ เทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันมีผลต่อการปรับปรุงการผลิตหอยสองฝา ลดต้นทุนในการผลิต เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ และช่วยลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมให้น้อยที่สุด มีการพัฒนาการผลิตอนุภาคอาหารขนาดเล็กรูปแบบใหม่โดยนำสารละลายของสารห่อหุ้มไขมันและอาหารผงปั๊มเข้าไปในหัวฉีดละอองอัตราโซนิก ก่อนที่อนุภาคจะก่อตัวเป็นทรงกลมที่สมบูรณ์ในห้องทำความเย็นเฉพาะ และเคลือบด้วยสารลดแรงตึงผิวเพื่อช่วยในการกระจายตัวในน้ำ (ภาพที่ 36) อาหารที่ได้มีข้อดีทางการผลิต ควบคุมโรค และมีคุณภาพ คุณสมบัติทางกายภาพของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทสามารถปรับให้เหมาะสมได้ขึ้นอยู่กับชนิดและความต้องการของหอยสองฝา รวมถึงสามารถเพิ่มและลดในส่วนของคุณค่าทางอาหารได้ตามต้องการ และยังสามารถจัดส่งสารควบคุมโรคได้ตามเป้าหมาย เช่น ยาปฏิชีวนะ หรือโปรไบโอติก



ภาพที่ 36 ลักษณะอนุภาคของอาหารที่ห่อหุ้มด้วยไมโครแคปซูลที่ใช้ในการเลี้ยงหอยสองฝา
ที่มา: Willer and Aldridge (2019)

Hauville, Zambonino-Infante, Bell, Migaud and Main (2013) ได้ทำการศึกษาอาหารขนาดเล็กที่แตกต่างกัน 3 สูตร (ตารางที่ 8) ต่อความสำเร็จในการยอมรับอาหาร การเจริญเติบโต การรวมตัวของกรดไขมัน และการทำงานของเอนไซม์ต่อการเลี้ยงลูกปลาปอมปาโน (*Trachinotus carolinus*) การศึกษาในครั้งนี้ทำให้ได้องค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับความต้องการสารอาหาร และการพัฒนาระบบย่อยอาหารของลูกปลาวัยอ่อน ผลลัพธ์แรก คือ มีการแนะนำสารอาหารที่มีไขมัน 20 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 55 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วน DHA:EPA ที่มากกว่า 1 และอัตราส่วน ARA/EPA อย่างน้อย 0.08 เหมาะสมต่อการยอมรับอาหารในปลาปอมปาโน โดยในอาหารขนาดเล็กสูตร Gemma ทำให้ลูกปลามีประสิทธิภาพดีที่สุดในการทดลองครั้งนี้ ประการที่สองผลจากการวิเคราะห์

เอนไซม์พบว่าตับอ่อนสามารถทำงานได้อย่างสมบูรณ์เมื่ออายุ 16 วัน แสดงให้เห็นว่ามีการยอมรับอาหารขนาดเล็กเกิดขึ้นได้เร็ว แต่ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อกำหนดความแม่นยำในการต้องการโภชนาการของปลาปอมปาโน แม้ว่าไขมันจะเป็นหนึ่งในปัจจัยทางโภชนาการที่สำคัญที่สุดต่อการเจริญเติบโตและอัตรารอดของลูกปลาวัยอ่อน แต่ส่วนประกอบอื่น ๆ และสารอาหารขนาดเล็กสามารถเสริมหรือยับยั้งพัฒนาการของลูกปลาวัยอ่อนได้ รวมถึงส่วนผสมและส่วนเสริมที่มีในปริมาณต่ำในอาหารที่ทดสอบในครั้งนี้เช่น taurine ยีสต์ หรือวิตามิน และแร่ธาตุซึ่งอยู่นอกเหนือขอบเขตของการศึกษา ผลลัพธ์จากการศึกษาให้ข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์สำหรับการยอมรับอาหารขนาดเล็กที่เหมาะสม ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการทดลองในอนาคต เพื่อกำหนดระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการยอมรับอาหารของปลาปอมปาโนได้ต่อไป

ตารางที่ 8 แสดงส่วนผสมของอาหาร Microdiet ตามสูตรต่าง ๆ ที่กำหนด

อาหารสูตรต่าง ๆ	**ส่วนผสม**
Otohime	เคยป่น ปลาป่น หมึกป่น แป้งมันสำปะหลัง แป้งสาลี น้ำมันปลา กัวร์กัม เลซิตินจากถั่วเหลือง เบทาอีน พืชชะเอม สารสกัดจากแอปเปิ้ล จมูกข้าวสาลี
Gemma	ปลาป่น สาหร่าย น้ำมันปลา เลซิติน เบทาอีน โปรตีนจากข้าวสาลี วิตามิน และแร่ธาตุ
LR803	หมึกป่น เคยป่น น้ำมันแอนโชวี่ เลซิติน โปรตีนข้าวสาลีป่น วิตามิน di-แคลเซียมฟอสเฟส ทอรีน วิตามินซี แอสตาแซนทิน

ที่มา: Hauville et al. (2013)

Xie et al. (2013) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการกักเก็บสารอาหารของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทในสารละลายที่แตกต่างกัน และการกำหนดลักษณะการปลดปล่อยและการได้รับสารอาหารในระบบทางเดินอาหารของกุ้ง *Penaeus japonicus* วัยอ่อน โดยใช้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่ห่อหุ้มด้วยเจลาติน 7.8 เปอร์เซ็นต์ และเอทิลเซลลูโลส 4.2 เปอร์เซ็นต์ ผ่านกระบวนการเคลือบแบบฟลูอิไดซ์เบด พบว่า ประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดอะมิโนอิสระของไมโครแคปซูลที่หุ้มเจลาติน และเอทิลเซลลูโลสเท่ากับ 12.9 และ 17.2 เปอร์เซ็นต์ ลูกกุ้งที่ได้รับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลททั้ง 2 ชนิด (ตารางที่ 9) มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าลูกกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาร์ทีเมียและกุ้งแผ่น ส่วนประกอบของสารอาหารภายในลำไส้ของลูกกุ้งวัยอ่อนเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ แสดงให้เห็นว่า อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทมีลักษณะการปลดปล่อยสารอาหารอย่างช้า ๆ และสามารถ

ควบคุมในระบบทางเดินอาหารของลูกกุ้งวัยอ่อนได้ การเลือกสารในการห่อหุ้มมีความสำคัญ ถ้าสารห่อหุ้มมีผนังที่หนาเกินไปจะไปยับยั้งการปลดปล่อยสารอาหารจากไมโครแคปซูล และส่งผลต่อการย่อยในระบบทางเดินอาหารของลูกกุ้งวัยอ่อนได้

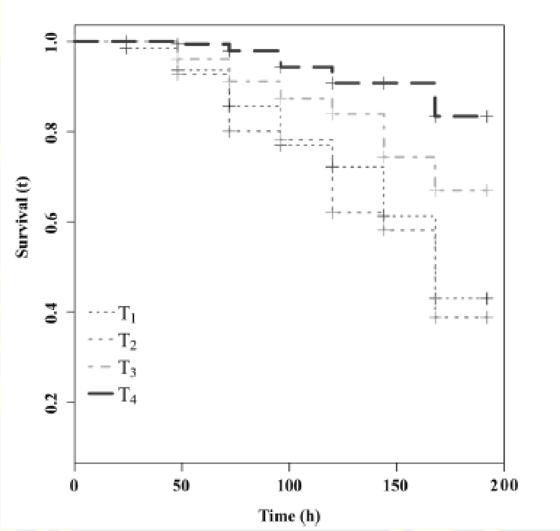
ตารางที่ 9 องค์ประกอบส่วนผสมในอาหารไมโครเอนแคปซูล

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (g kg^{-1} อาหารแห้ง)
Fish meal	250
Casein	200
Peanut meal	100
Soybean meal	100
Wheat flour	75
Soy lecithin	60
Shrimp shell meal	50
Fodder yeast	40
Squid meal	40
Fish oil	25
Vitamin mixture	10
Mineral mixture	10
Sodium alginate	10
Papain	10
Schizochytrium algae meal	10
Choline chloride	5
Calcium biphosphate	5

ที่มา: Xie et al. (2013)

Tomazelli Junior et al. (2018) ได้ทำการศึกษาการให้ไมโครเอนแคปซูลเลทน้ำมันหอมระเหย (TEM) ที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 0.1, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ผสมลงในอาหารกุ้งในปริมาณที่เหมาะสม แล้วทำการเคลือบด้วยสารละลาย 0.5 เปอร์เซ็นต์เจลาตินไม่ปรุงรสเกรดอาหาร เพื่อป้องกันการละลาย จากนั้นทำให้แห้ง ใช้วิธีการทำให้แห้งแบบสเปรย์ ทำให้ไมโครแคปซูลมีประสิทธิภาพในการห่อหุ้มมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และนำไปเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง ไมโครเอนแคปซูลเลทน้ำมันหอมระเหยที่ได้จะมีลักษณะกลมและเรียบ นำอาหารที่ได้ไปศึกษาการป้องกันเชื้อ

ไวรัสตัวแดงดวงขาว (WSSV) ในกุ้งขาวแวนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ทำการศึกษาทั้งหมด 5 วิธี พบว่าอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่ผลิตโดยการพ่นแห้งนั้นง่ายต่อการจัดการ กุ้งที่ติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีอาการของการติดเชื้อ และสัตว์ยังคงกินอาหารได้ตามปกติ แสดงให้เห็นถึงผลของการป้องกันโรคตัวแดงดวงขาวโดยใช้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทน้ำมันหอมระเหยอีกด้วย (ภาพที่ 37) ผลงานนี้สนับสนุนความสำคัญในการใช้สเปรย์อบแห้งในการทำไมโครเอนแคปซูลเลทน้ำมันหอมระเหย และศักยภาพในการใช้ไมโครเอนแคปซูลเลทเพื่อต่อสู้กับเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้ง แสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาแบบไมโครเอนแคปซูลเลทอาจจะเป็นทางเลือกที่จะช่วยในการต่อต้านโรคตัวแดงดวงขาวในฟาร์มกุ้งได้



ภาพที่ 37 อัตรารอดของกุ้งขาวแวนาไมที่เลี้ยงด้วย TEM ระดับต่างกัน, T1 ชุดควบคุม, T2 TEM 0.1 0.1 เปอร์เซ็นต์, T3 TEM 0.5 เปอร์เซ็นต์ และ T4 1 เปอร์เซ็นต์

ที่มา: Tomazelli Junior et al. (2018)

Ramadhani et al. (2019) ได้ทำการศึกษาการผลิตโพรไบโอติก *Pseudoalteromonas piscicida* แบบไมโครเอนแคปซูลเลท และประเมินผลแบบพรีไบโอติกแมนแนน – โอลิโกแซ็กคาไรด์ ผ่านการเพิ่มคุณค่าทางอาหารในอาร์ทีเมีย ต่อจำนวนแบคทีเรีย การเจริญเติบโต การตอบสนองภูมิคุ้มกัน และความต้านทานโรคของกุ้งขาว (*L. vannamei*) ไมโครแคปซูลโปรไบโอติกทำโดยวิธีการทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง เลี้ยงลูกกุ้งวัยอ่อนเป็นเวลา 13 วัน และให้อาหารเป็นอาร์ทีเมียที่อุดมไปด้วยไมโครแคปซูลโปรไบโอติก พรีไบโอติก ซินไบโอติกและชุดควบคุมที่ไม่ให้โปรไบโอ

ติก และพรีไบโอติก พบว่าไมโครแคปซูลของโปรไบโอติก พรีไบโอติก และซินไบโอติกที่ผ่านการเสริมคุณค่าทางอาหารให้กับอาร์ทีเมียสามารถเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย เพิ่มการเจริญเติบโต การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน และความต้านทานโรคของลูกกุ้งขาว สรุปได้ว่าเทคโนโลยีไมโครเอนแคปซูเลชั่นสามารถผลิตผลิตภัณฑ์อาหารแห้งโดยมีความสามารถในการดำรงชีวิตของแบคทีเรียโปรไบโอติกที่คงตัวในช่วง 4 เดือนและสามารถป้องกันแบคทีเรียโปรไบโอติกจากกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาเช่นเดียวกับการนำไปใช้กับกุ้งผ่านอาร์ทีเมีย นอกจากนี้เทคโนโลยีนี้ยังสนับสนุนผลประโยชน์ต่อแบคทีเรียโปรไบโอติกเพื่อให้สามารถใช้พรีไบโอติกในระบบทางเดินอาหารของลูกกุ้งขาวแปซิฟิกได้อย่างเหมาะสม การให้โปรไบโอติก พรีไบโอติก และซินไบโอติกผ่านการเสริมอาร์ทีเมีย แสดงให้เห็นถึงผลประโยชน์ต่อประชากรแบคทีเรียการเจริญเติบโต การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรคของลูกกุ้งขาวแปซิฟิกต่อเชื้อ *V. harveyi* MR5339 RfR นอกจากนี้การรักษาด้วยซินไปโอติกแสดงให้เห็นถึงผลลัพธ์ที่ดีที่สุดเมื่อเทียบกับการรักษาแบบอื่น

Kovalenko et al. (2002) ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามด้วยอาหารขนาดเล็ก (MBD) (ตารางที่ 10) เปรียบเทียบกับการเลี้ยงด้วยอาหารมีชีวิต (อาร์ทีเมีย) ในระบบการเพาะเลี้ยงแบบหมุนเวียนที่มีการควบคุมอุณหภูมิ (28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน โดยส่วนผสมของอาหาร MBD ถูกทำให้เป็นเนื้อเดียวกันในเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ และผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิและความดันที่เหมาะสม อาหารที่ได้มีความสม่ำเสมอ และมีความชื้น 62-65 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของโปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้นได้ถูกกำหนดตามมาตรฐานทั่วไปพบว่าวงจรชีวิตของลูกกุ้งวัยอ่อนมีความใกล้เคียงกับการเลี้ยงด้วยอาหารมีชีวิต (อาร์ทีเมีย) อัตรารอด และการเจริญเติบโตของลูกกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารขนาดเล็กในครั้งนี้มากกว่าการทดสอบในการศึกษาที่ผ่านมาในห้องปฏิบัติการที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรพิเศษ การตอบสนองต่อการเจริญเติบโตลดลงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับอาร์ทีเมียมีชีวิต ความสำเร็จของอาหารขนาดเล็กอาจเป็นผลมาจากคุณภาพของโปรตีนที่ย่อยได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่วนผสมของอาหารประกอบด้วยโปรตีน 46.2 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 37.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งหาได้ง่าย ขั้นตอนการเตรียมไม่ยุ่งยาก และมีความคงตัวของอาหาร จึงนับได้ว่าอาหารขนาดเล็ก MBD เป็นทางเลือกที่ประหยัดและมีสารอาหารคงที่ เมื่อเทียบกับอาร์ทีเมียที่มีต้นทุนไม่แน่นอน สารอาหารไม่คงที่ และมีขั้นตอนในการผลิตค่อนข้างยุ่งยาก ความสำเร็จของอาหาร MBD ที่ใช้ในการเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนเป็นการสร้างพื้นฐานในการประยุกต์ใช้ที่เป็นประโยชน์ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนอื่น ๆ มีประโยชน์สำหรับการศึกษาความต้องการโภชนาการของลูกกุ้ง ลูกปลา และสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ ต่อไป

ตารางที่ 10 องค์ประกอบส่วนผสม (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) ของอาหาร MBD ที่ใช้ในการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกราม

ส่วนผสม	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง
Egg yolk	38.45
Casein (vitamin free)	14.69
Fish protein hydrolysate	15.38
Rice starch	7.69
Refined soy lecithin	1.92
Wheat gluten	3.85
Menhaden oil	5.63
Canthaxanthin (10%)	2.31
Cholesterol	0.12
Ascorbylpalmitate	0.04
Vitamin premix BML #2	1.15
Betaine	0.15
KH_2PO_4	1.15
Choline chloride	0.38
Mineral premix	1.54
Glucosamine	0.15
Alginate	5.38
Moisture	62.5
Protein	46.1
Lipid	37.4
Ash	5.6
Nitrogen free extract	10.9

ที่มา: Kovalenko et al. (2002)

BURAPHA UNIVERSITY มหาวิทยาลัยบูรพา

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1.1 วัสดุและอุปกรณ์

1.1.1 ลูกกุ้งมดแดงแรกฟัก (*R. durbanensis*)

1.1.2 แพลงก์ตอนสัตว์ คือ อาร์ทีเมียแรกฟัก (*Artemia* sp.)

1.1.3 อาหารไมโครเอนแคปซูลเลท (Microencapsulated diet)

1.1.4 น้ำทะเลผ่านการกรอง โดยใช้ถุงกรองขนาด 10 ไมโครเมตร

1.1.5 ภาชนะทดลอง ปริมาตรน้ำ 10 ลิตร

1.1.6 หัวทราย

1.1.7 สายออกซิเจน

1.1.8 สายยางสำหรับดูดตะกอนและเปลี่ยนถ่ายน้ำ

1.1.9 กระบวยตักน้ำ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

1.1.10 ภาชนะในการเปลี่ยนถ่ายน้ำ เช่น กะละมัง

1.1.11 เครื่องวัดค่าความเค็ม (Salinity Refractometer Manual) ยี่ห้อ ATAGO รุ่น Master - S/millM Cat. No. 2493

1.1.12 เครื่องวัดอุณหภูมิ (เทอร์โมมิเตอร์ชนิดวัดค่าสูงสุด – ต่ำสุด ในรอบวัน) ยี่ห้อ FUJI รุ่น MAXIMA – MINIMA

1.1.13 กล้องจุลทรรศน์ (Stereo Microscope) ยี่ห้อ NIKON รุ่น SMZ-U Zoom 1:10

1.1.14 กล้องจุลทรรศน์ (Compound Microscope) ยี่ห้อ OLYMPUS รุ่น CHS

1.1.15 เครื่องคอมพิวเตอร์และโปรแกรม Image-Pro PLUS

1.1.16 กล้องถ่ายภาพดิจิตอล ยี่ห้อ CANNON รุ่น D1100 และตัวปรับต่อกับเลนส์ตากล้องจุลทรรศน์ (Adapter for Microscope) รุ่น CA-NIK-CAN-SLR

1.1.17 ไม้บรรทัด

1.1.18 สไลด์นับแพลงก์ตอนสัตว์ (Sedwitch rafter)

1.2 สารเคมี

1.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ (รายละเอียดดังภาคผนวก ก)

1.2.2 สารเคมีในการเตรียมอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท

1.2.3 สารเคมีในการวิเคราะห์เอนไซม์

2. วิธีดำเนินการทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้มีการดำเนินการทดลองทั้งสิ้น 3 ขั้นตอนหลัก ๆ ได้แก่ 1) ขั้นตอนการเตรียมอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทสำหรับการทดลองอนุบาลลูกกุ้งมดแดง 2) ขั้นตอนการศึกษาการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยอาหารธรรมชาติ และอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ในรูปแบบการให้ที่แตกต่างกัน และ 3) การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์จากกุ้งมดแดง *R. durbanensis* โดยมีขั้นตอนการดำเนินงาน ดังนี้

1. ขั้นตอนการเตรียมอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทสำหรับการทดลองอนุบาลลูกกุ้งมดแดง มีขั้นตอนการดำเนินการ ดังนี้

1.1 การสร้างสูตรอาหาร

ก่อนการเตรียมอาหารจะดำเนินการศึกษาความต้องการสารอาหารสำหรับกุ้งวัยอ่อนตามเอกสารที่มีปรากฏก่อน เพื่อนำข้อมูลที่ได้มากำหนดเป็นองค์ประกอบที่จะใช้เป็นส่วนผสมในการเตรียมอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ซึ่งมีองค์ประกอบหลัก ๆ ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน เยื่อใย ความชื้น เถ้า และพลังงานโดยประมาณ ดังนี้ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 องค์ประกอบส่วนผสมของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท

ส่วนประกอบ	เปอร์เซ็นต์
Crude protein	45.87
Crude fat	14.13
Crude fiber	0.37
Ash	11.66
calcium	2.63
phosphorus	1.53
Methionine + Cysteine	1.28
Lysine	3.26
Digestible Energy	301.54

อย่างไรก็ตามจากข้อมูลองค์ประกอบส่วนผสมของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทดังตารางที่ 11 สามารถนำมากำหนดชนิดและปริมาณของวัตถุดิบที่จะใช้ในการเตรียมอาหาร เพื่อใช้สำหรับการทดลองเลี้ยงอนุบาลลูกกุ้งมดแดง *R. durbanensis* ได้ดังนี้ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 ชนิดและปริมาณวัตถุดิบที่เป็นส่วนผสมของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท สำหรับการทดลองเลี้ยงอนุบาลลูกกุ้งมดแดง *R. durbanensis*

วัตถุดิบ	น้ำหนัก (กิโลกรัม)
Fish meal	26.0
Squid meal	19.5
Poultry meal	25.0
dextrin	12.0
Fish oil	4.0
Soya oil	2.0
Monocalcium phosphate	0.5
Vitamin mixture	1.5
Mineral mixture	1.5
Vitamin C	2
Soy lecithin	3
Shrimp hydrolydate	2
salt	1

1.2 การทำอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท

เมื่อกำหนดสูตรอาหาร ชนิดและปริมาณวัตถุดิบอาหารที่จะใช้สำหรับการทดลองได้แล้ว ขั้นตอนต่อไป คือ การทำอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท โดยใช้วิธีการพอลิเมอร์ไรเซชันแบบเชื่อมต่อกับ Na alginate ตามวิธีของ Yufera et al. (1996) ที่ขนาด 400-500 ไมโครเมตร นำส่วนผสมของอาหาร (10 เปอร์เซ็นต์ w / v) กับแคลเซียมซิเตรต (1 เปอร์เซ็นต์ w / v) ใส่ในสารละลาย Na alginate (1.5 เปอร์เซ็นต์ w / v) สารละลายสองส่วนนี้ถูกทำให้เป็นอิมัลชันในสารละลายเลซิตินจากถั่วเหลืองห้าส่วน และน้ำมันรำข้าว (2 เปอร์เซ็นต์ w / v) ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงทำให้เป็นเนื้อเดียวกันเป็นเวลา 10 นาที ที่ 1,000 รอบต่อนาที ในอุณหภูมิห้อง จากนั้นเติม

สารละลายกรดอะซิติก และน้ำมันรำข้าว (1/1) ลงในอิมัลชันด้วยการกวนอย่างต่อเนื่อง และดำเนินปฏิกิริยาต่อไปอีก 8 นาที สารละลายอะซิติกแทนค่า 4 เปอร์เซ็นต์ (v / v) ของปริมาณน้ำมันทั้งหมด รอให้อนุภาคขนาดเล็กที่เกิดขึ้นตกตะกอน และนำน้ำมันส่วนเกินออกโดยการเท จากนั้นนำอนุภาคที่ได้เทใส่สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (0.5 เปอร์เซ็นต์ w / v) เป็นเวลา 8 นาที เติมสารละลาย Tween 80 (1 เปอร์เซ็นต์) เป็นเวลา 5 นาที นำแคปซูลที่ได้มาล้างด้วยน้ำเพื่อกำจัดเศษตะกอนออก และนำแคปซูลที่ได้มาทำให้แห้ง

1.3 การวิเคราะห์ลักษณะของไมโครแคปซูล

หลังจากทำอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเรียบร้อยแล้ว จะนำอาหารที่เตรียมได้มาวิเคราะห์ความเสถียรของอนุภาคและวิเคราะห์หาปริมาณโภชนาการในอาหาร โดยขั้นตอนการวิเคราะห์ความเสถียรของอนุภาคของอาหาร จะนำอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่ได้มาวิเคราะห์โดยการหาการสูญเสียทั้งหมดของอนุภาคแห้ง หลังจากการคืนสภาพเป็นเวลา 30 นาที, 1, 2, 3, 4 และ 24 ชั่วโมง โดยน้ำหนักแห้งของไมโครแคปซูลถูกทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เพื่อให้ได้น้ำหนักที่คงที่ และการวิเคราะห์หาปริมาณโภชนาการในอาหาร จะนำอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ไขมัน เยื่อใย ความชื้น ปริมาณเถ้า และปริมาณพลังงานโดยการวิเคราะห์เชิงใกล้เคียง (AOAC, 1990)

1.4 การวิเคราะห์หาการสูญเสียโปรตีนในอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท

โดยการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนใน Soluble protein ในอาหารไมโครเอนแคปซูลเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนละลายได้ในอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่เวลาต่าง ๆ กัน โดยนำตัวอย่างอาหาร 500 มิลลิกรัม ละลายใน Phosphate buffer 250 มิลลิลิตร กวนอย่างต่อเนื่องที่ 60 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างสารละลาย ที่เวลา 0, 5, 15, 30 และ 60 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนใส จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Lowry method และวัดค่าดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร โดยคำนวณปริมาณของโปรตีนที่ละลายได้คำนวณโดยใช้ Bovine serum albumin เป็นสารมาตรฐาน

1.5 การศึกษาประสิทธิภาพย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง

อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทจะมี cleavage peptides เพิ่มขึ้นเป็นสามเท่า (Gimenez, et al., 1999) วิเคราะห์โดยการเติมอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท 20 มิลลิกรัมใส่ใน phosphate buffer ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 12 มิลลิกรัม (pH 7.5) และบ่มค้างคืนที่

อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส การย่อยในหลอดทดลองเริ่มต้นโดยการเติมเอนไซม์สกัดหยาบ 500 ไมโครลิตร และบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หลังจากย่อยอาหารแล้วนำส่วนผสมที่ย่อยได้ 1 มิลลิลิตร มาทดสอบ Cleavage peptides โดยวิธี Trinitrobenzene Sulphonic acid (TNBS) โดยนำตัวอย่างมาเติม 50 mM phosphate buffer pH 8 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ TNBS 1 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปบ่มในที่มืด 60 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เติม 1 M HCl วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Alanine และแปลงเป็น mg protein โดยใช้เส้นโค้งมาตรฐานโดย Bradford protein assay

2. ขั้นตอนการศึกษาการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยอาหารธรรมชาติ และอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทในรูปแบบการให้ที่แตกต่างกัน

2.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) โดยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกัน 4 ชุดการทดลอง (Treatment) ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (Replicate) รวมทั้งหมด 12 หน่วยการทดลอง (Experimental unit) ที่มีผลต่ออัตรารอด การเจริญเติบโต และระยะเวลาในการลงเกาะของลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อนตั้งแต่แรกฟักจนถึงระยะที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Metamorphosis) ดังนี้

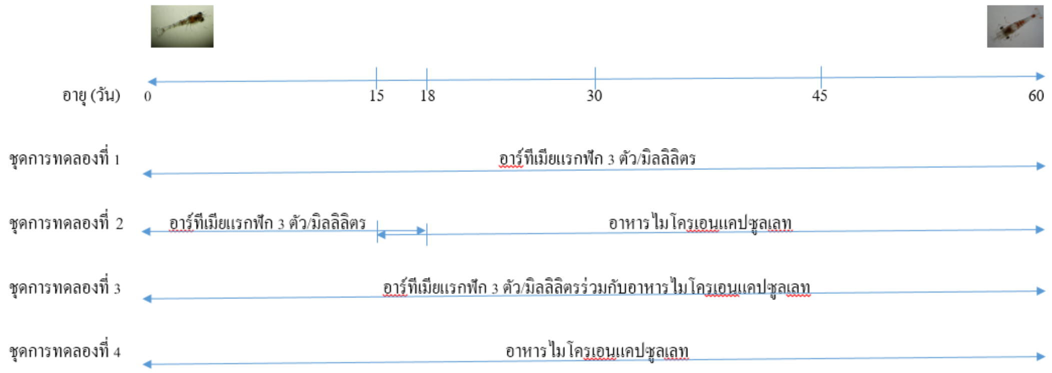
ชุดการทดลองที่ 1 ให้อาร์ทีเมียที่ความหนาแน่น 3 ตัวต่อมิลลิลิตรตลอดการทดลอง

ชุดการทดลองที่ 2 ให้อาร์ทีเมียที่ความหนาแน่น 3 ตัวต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 18 วัน และวันที่ 15 เริ่มให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลท จนสิ้นสุดการทดลอง

ชุดการทดลองที่ 3 ให้อาร์ทีเมียที่ความหนาแน่น 3 ตัวต่อมิลลิลิตร ร่วมกับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทตลอดการทดลอง

ชุดการทดลองที่ 4 ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทตลอดการทดลอง

ดังแผนผังการดำเนินการดังนี้



2.2 การเตรียมพ่อแม่พันธุ์กุ้งมดแดง R. durbanensis

พ่อแม่พันธุ์ที่ใช้สำหรับการทดลองเป็นพ่อแม่พันธุ์จากการเพาะเลี้ยงในหน่วยงานเพาะเลี้ยงสัตว์และพืชทะเลสวยงาม สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ที่อัตราปล่อยเพศผู้ 1 ตัวต่อเพศเมีย 3 ตัว เลี้ยงในตู้ขนาด 30 เซนติเมตร x 30 เซนติเมตร x 26 เซนติเมตร (กว้าง x ยาว x สูง) ในระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิด โดยใช้สาหร่ายในการบำบัดคุณภาพน้ำ ใส่หินเป็น (Live rock) เพื่อเป็นที่หลบซ่อนและที่อยู่อาศัยของกุ้งมดแดง ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปและกุ้งสับเป็นอาหารทุกวัน วันละ 2 ครั้ง เช้าและเย็น ดูดตะกอนอาหารเหลือทุกวันหลังให้อาหารตอนเย็น (ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ, 2563)

2.3 การเตรียมแพลงก์ตอนสัตว์สำหรับทดลอง

การทดลองนี้จะให้อาร์ทีเมียแรกฟักเป็นอาหารสำหรับการอนุบาลลูกกุ้งมดแดง *R. durbanensis* โดยเลือกใช้ไข่อาร์ทีเมียยี่ห้อ PHOENIX ฟักไข่ในภาชนะขนาด 10 ลิตร เติมน้ำทะเลที่ความเค็ม 30-32 ส่วนในพัน (ppt) ให้อากาศนาน 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกตัวอ่อนอาร์ทีเมียแรกฟักออกจากเปลือกไข่ (โดยใช้หลักการเคลื่อนที่เข้าหาแสง) นำสายอากาศออกจากถังฟักไข่อาร์ทีเมีย ใช้ถุงพลาสติกสีดำปิดคลุมรอบภาชนะ โดยเว้นจากขอบก้นภาชนะสูง 2 นิ้ว เพื่อให้แสงลอดผ่าน ทิ้งไว้ 5 นาที จึงใช้สายอากาศค่อย ๆ ดูดแยกตัวอ่อนอาร์ทีเมียแรกฟักลงในภาชนะที่เตรียมไว้ จากนั้นนำตัวอ่อนอาร์ทีเมียกรองใส่สวิงขนาด 45 ไมโครเมตรล้างทำความสะอาดด้วยน้ำทะเลที่มีระดับความเค็มเท่ากัน นำอาร์ทีเมียใส่ในภาชนะที่มีน้ำทะเลเตรียมไว้ ให้อากาศเบา ๆ สุ่มนับจำนวนอาร์ทีเมียแรกฟักภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (Stereo Microscope) ด้วยสไลด์นับแพลงก์ตอนสัตว์ (Sedwitch rafter) เพื่อคำนวณปริมาณอาหารที่ต้องใช้ใส่ตามที่กำหนดที่ความหนาแน่น 3 ตัวต่อมิลลิลิตร และนำไปอนุบาลลูกกุ้งมดแดง *R. durbanensis* ตามชุดการทดลองที่กำหนดต่อไป

2.4 การเตรียมตัวอย่างและอุปกรณ์ทดลอง

หลังจากพ่อแม่พันธุ์กุ้งมดแดง *R. durbanensis* ผสมพันธุ์ จะพบว่ามีไข่อยู่บริเวณใต้ท้องแม่พันธุ์กุ้งทันที จากนั้นลูกกุ้งจะใช้ระยะเวลาพัฒนาการประมาณ 10 วัน จึงจะฟักออกเป็นตัว เมื่อถึงกำหนดฟักตัว ไข่จะมีสีเงิน แวววาว จึงทำการย้ายแม่พันธุ์มาฟักในถังไฟเบอร์ที่มีความจุน้ำปริมาตร 30 ลิตร คลุมถังด้วยพลาสติกสีดำ เพื่อพรางแสงและป้องกันการรบกวนจากภายนอก ให้อากาศเบา ๆ หลังจากลูกกุ้งฟักจะทำการย้ายแม่พันธุ์กุ้งใส่ในตู้เลี้ยงเดิม และทำการสุ่มนับจำนวนลูกกุ้งมดแดงแรกฟัก เพื่อเตรียมไปใช้ในแต่ละชุดการทดลองตามที่กำหนดตามข้อ 2.1 โดยก่อนการสุ่มลูกกุ้งสำหรับการทดลอง จะทำการเตรียมภาชนะทดลองโดยใช้ถังอนุบาลปริมาตรน้ำ 10 ลิตร เติมน้ำทะเลที่ผ่านการกรองด้วยถุงกรองน้ำขนาด 10 ไมโครเมตร ที่ระดับความเค็มเดียวกับถังฟัก ให้อากาศโดยใช้หัวทรายต่อกับสายยาง สุ่มนับลูกกุ้งลงถังทดลองที่ความหนาแน่น 3 ตัวต่อลิตร (ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ, 2563) รวมทั้งสิ้น 30 ตัวต่อถัง จำนวน 12 ใบ (รวมทั้งหมด 360 ตัว) จากนั้นจึงเริ่มทำการทดลองตามชุดการทดลองที่กำหนดต่อไป

2.4 การดูแลระหว่างการทดลอง

อาหารและการให้อาหาร ให้อาหาร (ตามชุดการทดลองที่กำหนด) ทุกวัน วันละ 2 ครั้ง เวลา 10.00 น. และ 15.00 น. การจัดการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ในช่วง 5 วันแรกของการอนุบาลจะดูดตะกอนและเปลี่ยนถ่ายน้ำ 20-30 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นจะดูดตะกอนและเปลี่ยนถ่ายน้ำ 40 เปอร์เซ็นต์ ในตอนเช้า จนสิ้นสุดการทดลอง ในระหว่างการทดลองจะตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 พารามิเตอร์การตรวจวัดคุณภาพน้ำ หน่วย และวิธีวิเคราะห์ระหว่างการทดลอง

พารามิเตอร์	หน่วย	วิธีวิเคราะห์
<u>ทุกวันเว้นวัน</u>		
อุณหภูมิ	°C	Thermometer ชนิดวัดค่าสูงสุด – ต่ำสุด ในรอบวัน) ยี่ห้อ FUJI รุ่น MAXIMA – MINIMA
ความเค็ม	ppt.	Salinity-refractometer ยี่ห้อ ATAGO รุ่น Master - S/millM Cat. No. 2493

ตารางที่ 13 (ต่อ)

พารามิเตอร์	หน่วย	วิธีวิเคราะห์
<u>ทุกสัปดาห์</u>		
แอมโมเนียรวม	milligram/liter as Nitrogen	Strickland and Parsons (1972)
ไนไตรท์-ไนโตรเจน	milligram/liter as Nitrogen	Azo dye
ความเป็นด่างของน้ำ	milligram/liter as $CaCO_3$	Titration method (APHA, 1980)

2.6 การเก็บข้อมูลและการประเมินผลการทดลอง

ในระหว่างการทดลองจะทำการสังเกตและบันทึกข้อมูลการทดลองทุกวัน และทำการบันทึกค่าคุณภาพน้ำ (ตารางที่ 13) และทำการเก็บข้อมูลในส่วน อัตรารอด การเจริญเติบโต และระยะเวลาพัฒนาการของลูกกุ้งมดแดงจนกระทั่งถึงระยะที่มีการเปลี่ยนรูปร่าง (Metamorphosis) ดังนี้

- อัตราการรอดตาย (Survival rate) นับจำนวนลูกกุ้งมดแดง และคำนวณหาอัตราการรอดตาย โดยใช้สูตร

$$\text{อัตราการรอดตาย} = \frac{\text{จำนวนลูกกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนลูกกุ้งเริ่มทดลอง}} \times 100$$

- การเจริญเติบโต ทำการวัดขนาดลูกกุ้งมดแดง *R. durbanensis* ก่อนและหลังการทดลอง โดยใช้วิธีถ่ายภาพเทียบลูกกุ้งพร้อมน้ำที่ใช้เลี้ยงกับสเกลวัดขนาดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ โดยใช้กล้องถ่ายภาพบันทึกภาพ โดยใช้เวลาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์นาน 3 นาที เพื่อป้องกันลูกกุ้งความเครียด จากนั้นวัดขนาดโดยใช้โปรแกรม Image-Pro PLUS เพื่อนำมาหาค่าเฉลี่ยค่าความยาว และบันทึกการเปลี่ยนแปลง และวัน เดือน ปี ที่พบ
- ระยะเวลาในการลงเกาะ สังเกตการเปลี่ยนแปลง และถ่ายภาพลูกกุ้งที่พบการเปลี่ยนแปลง และบันทึกวัน เดือน ปีที่พบ

2.7 การวิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผล

นำข้อมูลอัตรารอด การเจริญเติบโต และระยะเวลาในการลงเกาะ มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) แบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan' s New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์และวิจัยข้อมูลทางสถิติ Minitab License code 2ec6-9b37-1508-0264-2c55-c33

3. การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์จากลูกกุ้งมดแดง R. durbanensis

หลังจากที่ทำการทดลองในข้อ 2) ขั้นตอนการศึกษาการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยอาหารธรรมชาติ และอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ในรูปแบบการให้ที่แตกต่างกันเสร็จสิ้น จะทำการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์จากลูกกุ้งมดแดง *R. durbanensis* ที่ทดลอง โดยมีขั้นตอนการดำเนินงาน ดังนี้

3.1 การเตรียมสารสกัดจากเอนไซม์

เก็บตัวอย่างลูกกุ้งมดแดงหลังจากการงดอาหารเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้ล้างในน้ำกลั่นและทำให้แห้ง บันทึกความยาวก่อนเก็บรักษาในหลอด Eppendorf ซึ่งจะถูกแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส การวิเคราะห์สารสกัดจากเอนไซม์ การเตรียมโดยนำตัวอย่างทั้งตัวมาบดให้เป็นเนื้อเดียวกันใน Tris - HCl buffer ความเข้มข้น 50 mM (pH 7.5) โดยใช้อัตราส่วน 1:4 ให้ละเอียดด้วย Homogenizer จากนั้นนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บส่วนที่เป็นของเหลวด้านบนที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมการย่อยโปรตีนต่อไป (Gimenez et al., 1999)

3.2 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ โดยมีขั้นตอนการดำเนินการเป็นหัวข้อย่อย ดังนี้

3.2.1 กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสจะเพิ่มขึ้นเป็นสามเท่าโดยการวัดความแตกแยกที่เพิ่มขึ้นของพอลิเปปไทด์สายสั้น (Bezerra et al., 2005) กิจกรรมโปรติเอสทั้งหมดถูกทดสอบโดยการใช้ Azocasein ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) บ่มสารตั้งต้น (500 ไมโครลิตร) ด้วยสารสกัดเอนไซม์ (20 ไมโครลิตร) และสารละลายบัฟเฟอร์ (200 ไมโครลิตร) เป็นเวลา 60 นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมกรดไตรคลอโรอะซิติก (TCA) ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (w / v) 500 ไมโครลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา เป็นเวลา 15 นาที นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที นำตัวอย่างส่วนใสที่อยู่ด้านบน (1 มิลลิลิตร) เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ (1.5 มิลลิลิตร) และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร เทียบกับสารละลายที่เตรียมลักษณะเดียวกัน แต่ไม่มีตัวอย่างสารสกัดหยาบ กิจกรรมเฉพาะของโปรตีเอสแสดงเป็นหน่วยการเปลี่ยนแปลงของการดูดซึมต่อนาทีต่อโปรตีนมิลลิกรัม ของสารสกัดจากเอนไซม์ (ΔAbs min^{-1} mg protein^{-1})

3.2.2 กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน ทดสอบโดยการบ่มสารสกัดจากเอนไซม์ 0.1 มิลลิลิตร กับสารตั้งต้นทริปซินปริมาตร 0.7 มิลลิลิตร (Benzoyl-L-argininep-nitroanilide ความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที (Torrissen, Lien and Espe, 1994) หยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมกรดอะซิติกความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร แล้ว

ผสมให้เข้ากัน การหาค่าผลิตภัณฑ์ Nitroanilide วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Nitroanilide

3.2.3 กิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซินทดสอบโดยการบ่มสารสกัดจากเอนไซม์หยาบ 0.1 มิลลิลิตร กับสารตั้งต้นไคโมทริปซินปริมาตร 0.7 มิลลิลิตร (Succinyl-Ala-Ala-Ala-Pro-Phe-p-nitroanilide ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (Rungruangsak-Torrissen and Sundby, 2000) ปฏิกิริยาจะหยุดและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตรในลักษณะเดียวกับเอนไซม์ทริปซิน กิจกรรมเฉพาะของเอนไซม์ทริปซินและเอนไซม์ไคโมทริปซินแสดงเป็น μmol *p*-nitroaniline produced h^{-1} mg $protein^{-1}$

3. สถานที่ทำการทดลอง

ในการศึกษาการให้อาหารที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดง ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยง สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

4. ระยะเวลาการดำเนินงานวิจัย

เดือนมกราคม พ.ศ. 2565 – เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2565

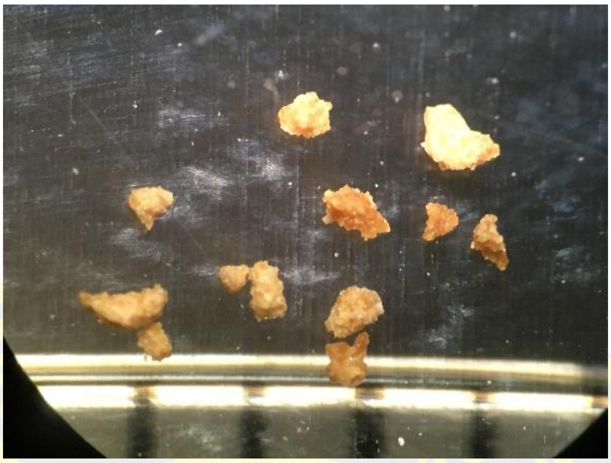
BURAPHA UNIVERSITY

บทที่ 4
ผลการวิจัย

การศึกษาการให้อาหารที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดง (*Rhynchocinetes durbanensis* Gordon, 1936) ด้วยอาหารมีชีวิต และอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด และระยะเวลาในการลงเกาะของลูกกุ้งมดแดงได้ดำเนินการทดลองทั้งสิ้น 3 ขั้นตอน ได้แก่ 1) การเตรียมอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทสำหรับการทดลองอนุบาลลูกกุ้งมดแดง 2) การศึกษาการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยอาหารธรรมชาติและอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ในรูปแบบการให้ที่แตกต่างกัน และ 3) การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์จากกุ้งมดแดง *R. durbanensis* โดยมีผลการศึกษา ดังนี้

1. การเตรียมอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทสำหรับการทดลองอนุบาลลูกก้งมดแดง

ก่อนการเตรียมอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทได้ทำการศึกษาความต้องการสารอาหารสำหรับการอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อน เพื่อนำมาประกอบสูตรอาหารและกำหนดวัตถุดิบอาหารที่ใช้เป็นส่วนผสมในการเตรียมอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท โดยได้กำหนดความต้องการสารอาหารของลูกกุ้งตาม NRC (2011) โดยกำหนดส่วนผสมอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก ๆ เมื่อได้ข้อมูลชนิดและปริมาณของวัตถุดิบที่เหมาะสมแล้ว ขั้นตอนต่อไปคือการทำอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท โดยใช้วิธีการพอลิเมอร์ไรเซชันแบบเชื่อมต่อกับ Na alginate ตามวิธีของ Yufera et al. (1996) ซึ่งทำให้ได้อาหารไมโครแคปซูลที่มีการกระจายตัวของอนุภาคต่ำและมีขนาดเล็ก โดยพบว่าอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่ได้มีขนาดตั้งแต่ 287-575 ไมโครเมตร เฉลี่ย 420±89 ไมโครเมตร (ภาพที่ 38) อาหารมีรูปร่างลักษณะพื้นผิวเรียบ มีหลายรูปทรง ขนาดสม่ำเสมอ มีความคงตัวของอาหาร และมีลักษณะเป็นเม็ดอาหารไม่จับตัวเป็นก้อน เมื่อนำอาหารที่ได้ไปให้ลูกกุ้งมดแดงกิน อาหารสามารถลอยตัวอยู่ในมวลน้ำได้โดยไม่ตกอยู่ก้นถังเป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมงจึงค่อยๆ ตกลงสู่พื้น โดยอาหารสามารถลอยตัวอยู่ในน้ำได้จากการเคลื่อนที่ของน้ำจากการให้อากาศภายในถังทดลอง (ภาพที่ 39)



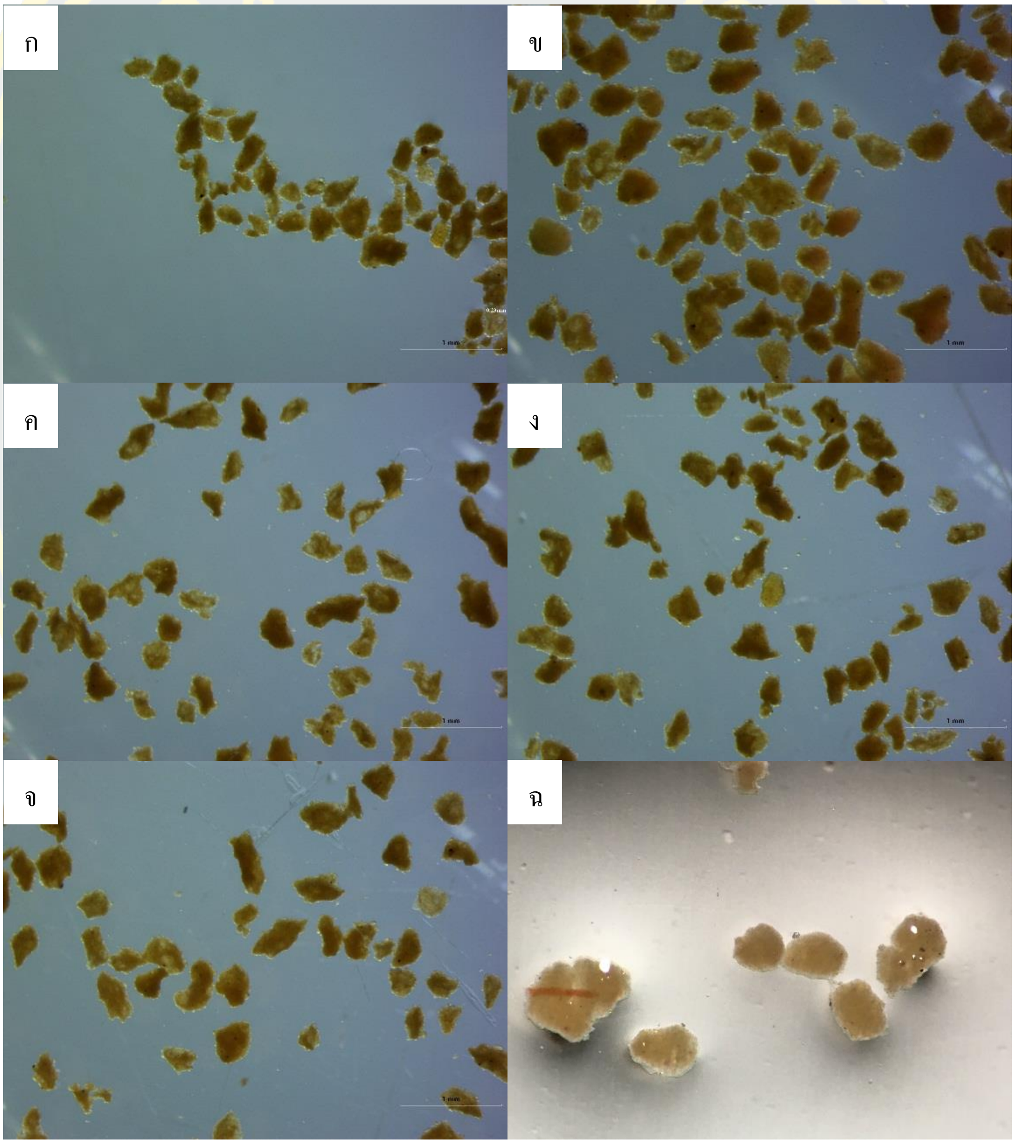
ภาพที่ 38 ลักษณะอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ภาพที่ 39 ลักษณะอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเมื่อลอยอยู่ในน้ำ

1.1 การวิเคราะห์ลักษณะของไมโครแคปซูล

เมื่อเตรียมอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเรียบร้อยแล้ว นำอาหารที่ได้มาวิเคราะห์ความเสถียรของอนุภาคเพื่อหาการสูญเสียทั้งหมดของอนุภาคแห้ง หลังจากการคืนสภาพเป็นเวลา 30 นาที 1, 2, 3, 4 และ 24 ชั่วโมง พบว่าเมื่อนำอาหารไปแช่ในน้ำที่ระยะเวลาต่าง ๆ ส่งผลให้ขนาดของอาหารดังนี้ ที่เวลา 30 นาที ขนาดของอาหารอยู่ระหว่าง 226-330 ไมโครเมตร ที่ 1 ชั่วโมง มีค่า 270-410 ไมโครเมตร ที่ 2 ชั่วโมง มีค่า 260-490 ไมโครเมตร ที่ 3 ชั่วโมง มีค่า 300-400 ไมโครเมตร ที่ 4 ชั่วโมง มีค่า 330-470 ไมโครเมตร และเมื่อนำอาหารไปแช่ในน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีค่า 408-557 ไมโครเมตร เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าขนาดของอาหารที่ทำการแช่ในน้ำที่ระยะเวลาต่าง ๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ตารางที่ 14) โดยอาหารที่แช่น้ำเป็นเวลา 30 นาที, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกัน แต่แตกต่างกับอาหารที่แช่น้ำเป็นเวลา 4 และ 24 ชั่วโมง โดย

พบว่าโครงสร้างอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทจะเก็บองค์ประกอบของอาหารภายในแคปซูลไว้ เพื่อลดการชะล้างของส่วนผสมสำคัญของอาหารที่ละลายน้ำได้ เมื่อแช่อาหารในน้ำความหนาของเปลือกที่ห่อหุ้มจะป้องกันและลดการชะล้างสารประกอบให้น้อยที่สุด เนื่องจากเปลือกแคปซูลมีลักษณะเป็นฟิล์ม และไม่แตกในน้ำ ส่วนประกอบอาหารที่ละลายน้ำได้จะถูกเก็บไว้ในแคปซูล จึงทำให้อาหารที่ได้เมื่อผ่านไป 30 นาที 1, 2, 3, 4 และ 24 ชั่วโมง รูปร่างลักษณะยังคงสภาพเดิมกับอาหารก่อนการแช่ในน้ำ (ภาพที่ 40) แต่ขนาดอนุภาคของอาหารมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเมื่อนำไปแช่ที่เวลาแตกต่างกัน



ภาพที่ 40 ลักษณะของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทหลังจากแช่น้ำเป็นเวลา 30 นาที (ก), 1 ชั่วโมง (ข), 2 ชั่วโมง (ค), 3 ชั่วโมง (ง), 4 ชั่วโมง (จ) และ 24 ชั่วโมง (ฉ)

ตารางที่ 14 ขนาดอนุภาคของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทหลังจากคืนสภาพที่เวลาต่าง ๆ

ระยะเวลา	ขนาดอาหาร (ไมโครเมตร)
30 นาที	286.71±39[a]
1 ชั่วโมง	337.14±50[a]
2 ชั่วโมง	325.17±83[a]
3 ชั่วโมง	347.14±34[a]
4 ชั่วโมง	408.57±52[b]
24 ชั่วโมง	450.80±61[b]

เมื่อนำอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทวิเคราะห์หาปริมาณโภชนาการด้วยวิธี proximate ตามวิธี AOCC (1999) ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน เยื่อใย ความชื้น เถ้า และปริมาณพลังงาน พบว่า องค์ประกอบทางเคมีของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเมื่อทำการวิเคราะห์โดยน้ำหนักแห้ง มีปริมาณโปรตีน 48.53 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 14.93 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 0 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 10.03 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเถ้า 3.29 เปอร์เซ็นต์ และพลังงาน 360 กิโลแคลลอรี่ ดังแสดงในรายละเอียด ตารางที่ 15 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการกำหนดความต้องการสารอาหารสำหรับกุ้งวัยอ่อน และองค์ประกอบส่วนผสมของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่กำหนดไว้ในตารางที่ 11 ซึ่งมีปริมาณโปรตีน 45.87 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 14.13 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 0.37 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 11.66 เปอร์เซ็นต์ และ พลัง 301.54 กิโลแคลลอรี่

ตารางที่ 15 ข้อมูลทางโภชนาการของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท

ส่วนประกอบ	เปอร์เซ็นต์
โปรตีน	48.53
ไขมัน	14.93
เยื่อใย	0.00
ความชื้น	10.03
เถ้า	3.29
พลังงาน (กิโลแคลลอรี่)	360

1.2 การวิเคราะห์หาการสูญเสียโปรตีนในอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท

การวิเคราะห์หาปริมาณของโปรตีนที่ละลายได้ (Soluble protein) ในอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่เวลาต่าง ๆ กัน คือ 0, 5, 15, 30 และ 60 นาที โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ bovine serum albumin (BSA) พบว่าปริมาณโปรตีนละลายได้ในอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่เวลา 0 ถึง 60 นาที มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ การสูญเสียโปรตีนมีค่าค่อนข้างต่ำอยู่ระหว่าง 13.35±0.53 - 15.80±0.37 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คิดเป็นอัตราการสูญเสียอยู่ระหว่าง 2.58 - 3.16 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำค่าเฉลี่ยที่ได้มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในช่วงเวลา 0 – 5 นาที ไม่มีความแตกต่างกัน แต่แตกต่างกับปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในช่วงเวลา 15, 30 และ 60 นาที ในช่วงเวลา 15 และ 30 นาที ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ไม่มีความแตกต่างกัน แต่แตกต่างกับปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในช่วงเวลา 60 นาที (ตารางที่ 16) โดยปริมาณการสูญเสียโปรตีนที่ละลายได้จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการแช่น้ำ

ตารางที่ 16 ปริมาณโปรตีนละลายได้ในอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่เวลาต่าง ๆ

เวลา (นาที)	**ปริมาณโปรตีนละลายได้ (mg/ml)**	**อัตราการสูญเสียโปรตีน (เปอร์เซ็นต์)**
0	13.35±0.53[a]	2.58±0.53[a]
5	13.51±0.52[a]	2.70±0.52[a]
15	14.54±0.24[b]	2.91±0.24[b]
30	14.75±0.22[b]	2.95±0.22[b]
60	15.80±0.37[c]	3.16±0.37[c]

1.3 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง

จากการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง (*in vitro* protein digestibility) จากการทำปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์สกัดหยาบจากลูกกุ้งมดแดงและอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท โดยวัดปริมาณของ Cleavage peptides โดยวิธี Trinitrobenzene Sulphonic acid (TNBS) โดยเทียบกับกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน จากการศึกษาพบว่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทด้วยเอนไซม์สกัดจากลูกกุ้งมดแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลองในหลอดทดลองมีค่า 4,674.47 mMol - Dl - Alanine/g feed/Trypsin activity

2. การศึกษาการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยอาหารธรรมชาติและอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ในรูปแบบการให้ที่แตกต่างกัน

ก่อนทำการศึกษารูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกัน ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบชนิดอาหารมีชีวิต กับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ที่มีผลต่ออัตราการรอดตายของลูกกุ้งมดแดง *R. durbanensis* ในระดับห้องปฏิบัติการ ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยมีชนิดอาหารที่แตกต่างกันเป็นสิ่งทดลองประกอบด้วย 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ รวม 15 หน่วยการทดลอง ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ให้อาหารชนิดอาร์ทีเมียแรกฟักที่ความหนาแน่น 3 ตัวต่อมิลลิลิตร

ชุดการทดลองที่ 2 ให้อาหารชนิดโรติเฟอร์ *Brachionus rotundiformis* ที่ความหนาแน่น 10 ตัวต่อมิลลิลิตร

ชุดการทดลองที่ 3 ให้อาหารอาร์ทีเมียแรกฟัก ที่ความหนาแน่น 2 ตัวต่อมิลลิลิตร ร่วมกับโรติเฟอร์ ที่ความหนาแน่น 5 ตัวต่อมิลลิลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลท 0.010 กรัม

ชุดการทดลองที่ 5 ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลท 0.005 กรัม ร่วมกับ อาร์ทีเมียแรกฟัก ที่ความหนาแน่น 3 ตัวต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

โดยเริ่มทำการทดลองตั้งแต่กุ้งมดแดงแรกฟัก จนถึงลูกกุ้งมีอายุ 28 วัน (ช่วงอนุบาลวัยอ่อน) เก็บรวบรวมข้อมูลอัตรารอดของลูกกุ้งมดแดง และปัจจัยแวดล้อม (ค่าคุณภาพน้ำ) ที่พบ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง มีรายละเอียดของผลการทดลอง ดังนี้

1. อัตรารอด ระหว่างการศึกษาวิจัยทำการนับจำนวนลูกกุ้งมดแดงในถังเลี้ยงทุกสัปดาห์ บันทึกวันเดือนปีที่พบ ระหว่างการศึกษาวิจัยมีอัตรารอดตายของลูกกุ้งมดแดงรายสัปดาห์ ดังตารางที่ 17 อัตรารอดตายของลูกกุ้งมดแดงที่อนุบาลด้วยอาหารมีชีวิตและอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ซึ่งเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าชุดการทดลองที่มีอัตรารอดตายสูงที่สุด คือ ชุดการทดลองที่ 5 ที่ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทร่วมกับอาร์ทีเมียแรกฟัก (54.43±4.16 เปอร์เซ็นต์) โดยไม่แตกต่างกับชุดการทดลองที่ 1 ที่ให้อาร์ทีเมียแรกฟักเป็นอาหาร (53.33±3.00 เปอร์เซ็นต์) แต่แตกต่างกับชุดการทดลองที่ 3 ที่ให้อาร์ทีเมียแรกฟักร่วมกับโรติเฟอร์ (42.22±1.53 เปอร์เซ็นต์), และชุดการทดลองที่ 2 ที่ให้โรติเฟอร์เพียงอย่างเดียว ลูกกุ้งมดแดงตายหมดทุกถังในสัปดาห์ที่ 4 และชุดการทดลองที่ 4 ที่ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเพียงอย่างเดียว ลูกกุ้งมดแดงตายหมดทุกถังตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 (0.00±0.00 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ

ตารางที่ 17 อัตรารอดของลูกกุ้งมดแดงที่อนุบาลด้วยอาหารมีชีวิตและอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ที่เวลา 4 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	**อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์) ต่อสัปดาห์**				
	0^{ns}	**1**	**2**	**3**	**4**
1	100.00±0.00	72.22±3.79^{c}	67.78±2.08^{a}	60.00±3.61^{a}	53.33±3.00^{a}
2	100.00±0.00	86.67±1.00^{a}	50.00±4.58^{b}	26.67±2.65^{b}	0.00±0.00^{c}
3	100.00±0.00	81.11±2.08^{b}	71.10±1.15^{a}	55.56±1.53^{a}	42.22±1.53^{b}
4	100.00±0.00	16.67±2.65^{d}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{c}
5	100.00±0.00	73.33±3.46^{c}	73.33±4.00^{a}	60.00±4.36^{a}	54.43±4.16^{a}

หมายเหตุ ns คือ non significant แสดงความไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างค่าเฉลี่ยในแนวตั้งเดียวกัน

2. คุณภาพน้ำระหว่างการทดลอง พบว่าค่าอุณหภูมิน้ำอยู่ระหว่าง 25.65±0.4 - 26.59±0.6 องศาเซลเซียส ค่าความเค็มอยู่ระหว่าง 31.00±1.3 - 31.37±1.4 ppt, ปริมาณแอมโมเนียรวม-ไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 0.09±0.0 - 0.17±0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณไนไตรท์-ไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 0.01±0.0 - 0.02±0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าความเป็นด่างของน้ำอยู่ระหว่าง 94.22±1.99 - 96.22±3.87 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 18) เมื่อนำค่าเฉลี่ยที่ได้มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ดังนี้

ตารางที่ 18 คุณภาพน้ำระหว่างการทดลองเปรียบเทียบชนิดอาหารมีชีวิต กับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงที่เวลา 4 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	**Temp (°C)^{ns}**	**Salinity (ppt)^{ns}**	**total ammonia (mg./l)^{ns}**	**nitrite-nitrogen (mg./l)^{ns}**	**alkalinity (mg./l)^{ns}**
1	26.41±0.41	31.20±1.42	0.17±0.10	0.01±0.01	95.50±2.50
2	26.16±0.39	31.00±1.31	0.09±0.00	0.01±0.00	95.67±2.45
3	25.65±0.40	31.37±1.42	0.17±0.02	0.02±0.02	96.22±3.87
4	26.59±0.61	31.00±2.08	0.19±0.01	0.01±0.00	94.55±4.26
5	25.92±0.59	31.16±1.89	0.19±0.11	0.01±0.00	94.22±1.99

หมายเหตุ ns คือ non significant แสดงความไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างค่าเฉลี่ยในแนวตั้งเดียวกัน

การอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่าง

การศึกษาการทดสอบรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกัน ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ประกอบด้วย 4 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ รวม 12 หน่วยการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ 1 ให้อาร์ทีเมีย ชุดการทดลองที่ 2 ให้อาร์ทีเมียเป็นเวลา 18 วัน และเริ่มให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทวันที่ 15 ชุดการทดลองที่ 3 ให้อาร์ทีเมียร่วมกับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท และชุดการทดลองที่ 4 ให้อาหารไมโครเอนแคปซูเลทตลอดการทดลอง ที่มีผลต่ออัตรารอด การเจริญเติบโต และระยะเวลาในการลงเกาะของลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อนตั้งแต่แรกฟักจนถึงระยะที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Metamorphosis) โดยทำการทดลองภายใต้สภาพแวดล้อมห้องปฏิบัติการ เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีรายละเอียดของผลการทดลองดังนี้

พ่อแม่พันธุ์กุ้งมดแดง R. durbanensis

พ่อแม่พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษาทดลองในครั้งนี้ได้จากการเพาะเลี้ยง (ภาพที่ 41) โดยมีความสมบูรณ์เพศตั้งแต่อายุ 30 วัน (หลังลงเกาะ) มีขนาดความยาวเหยียด (Total length) วัดตั้งแต่ปลายกรี (Rostrum) ถึงปลายแหลมที่บริเวณหาง (Telson) อยู่ระหว่าง 5.50-6.11 เซนติเมตร (เฉลี่ย 5.80 ± 0.75 เซนติเมตร) น้ำหนักอยู่ระหว่าง 0.83-1.14 (เฉลี่ย 0.98 ± 0.33 กรัม) สุ่มนับจำนวนตัวอ่อนที่ฟักอยู่ระหว่าง 1,000-2,500 ตัว (n=10) พบค่าคุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ ดังนี้ ค่าอุณหภูมิน้ำเฉลี่ย 27 ± 1.58 องศาเซลเซียส ความเค็มน้ำเฉลี่ย 32 ± 1.48 ppt, ค่ากรดด่างเฉลี่ย 7.9 ± 0.1, ค่าความเป็นด่าง เฉลี่ย 102 ± 5.74 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนเฉลี่ย 0.01±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

ภาพที่ 41 พ่อแม่พันธุ์กุ้งมดแดง *R. durbanensis*

ลูกกุ้งมดแดง *R. durbanensis* ที่ฟักออกเป็นตัว มีขนาดความยาวเหยียดอยู่ระหว่าง 1.78-2.16 มิลลิเมตร (ภาพที่ 42) เฉลี่ย 1.96 ± 0.13 มิลลิเมตร (n=20) อัตราการฟักออกจากไข่ 95-100 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 42 ลูกกุ้งมดแดงแรกฟัก

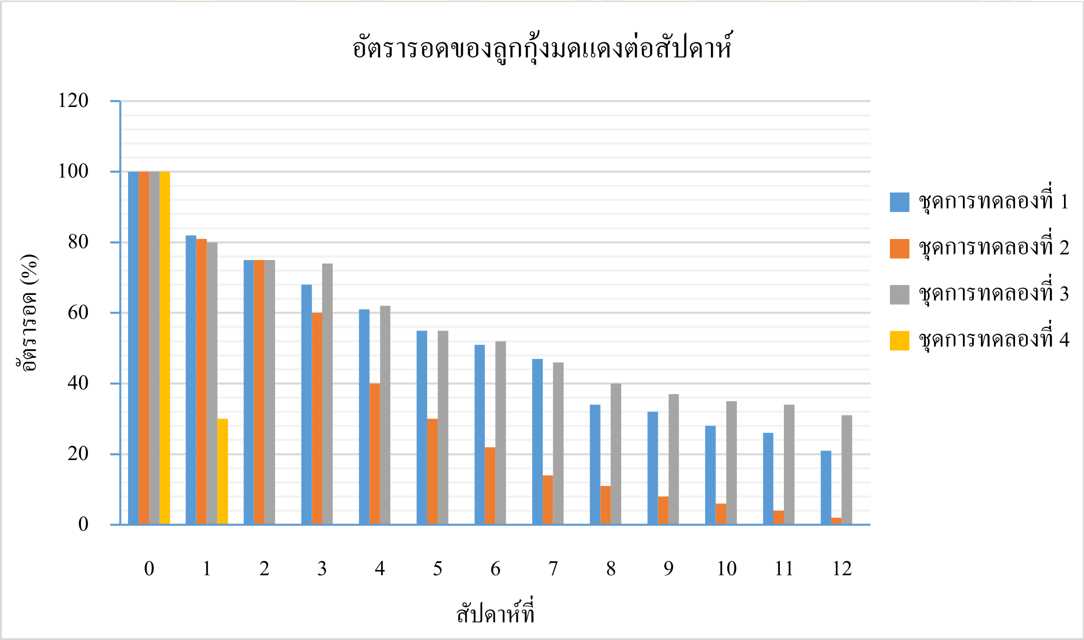
อัตรารอดของลูกกุ้งมดแดงจากการอนุบาลด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่าง

จากการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกัน 4 ชุดการทดลอง โดยใช้อัตราปล่อยที่ 3 ตัวต่อลิตร (30 ตัวต่อถัง) ทำการนับลูกกุ้งในถังเลี้ยงทุกสัปดาห์ พบว่าระหว่างการศึกษามีอัตรารอดตายของลูกกุ้งรายสัปดาห์ ดังแสดงในตารางที่ 19 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าอัตรารอดของลูกกุ้งมดแดงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยชุดการทดลองที่มีอัตรารอดตายสูงที่สุด คือ ชุดการทดลองที่ 3 ที่ทำการอนุบาลด้วยอาร์ทีเมียร่วมกับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท (31±5.8 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งไม่แตกต่างกับชุดการทดลองที่ 1 ที่ให้อาร์ทีเมียแรกฟัก (21±2.0 เปอร์เซ็นต์) แต่แตกต่างกับชุดการทดลองที่ 2 ที่ให้อาร์เมียเป็นเวลา 18 วัน และเริ่มให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทวันที่ 15 ซึ่งลูกกุ้งมดแดงมีอัตรารอดเพียง 2±0.6 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น และแตกต่างกับชุดการทดลองที่ 4 ที่ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเพียงอย่างเดียว พบว่าลูกกุ้งมดแดงตายหมดทุกถังตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 (0.0±0.0 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ (ภาพที่ 43) จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าลูกกุ้งมีการยอมรับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท (ภาพที่ 44) และสามารถนำมาใช้ร่วมกันสำหรับอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อนได้

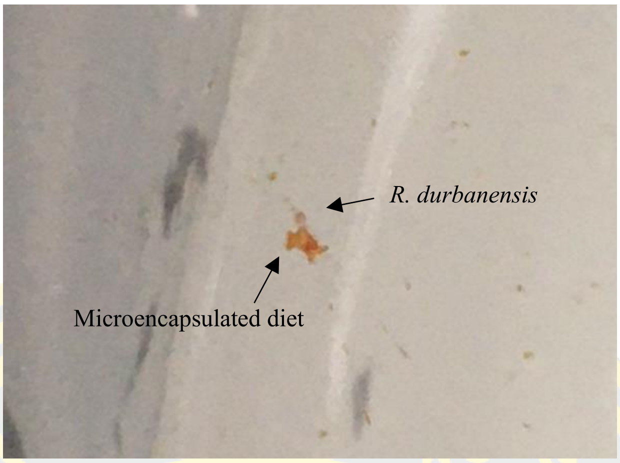
ตารางที่ 19 อัตรารอดของลูกกุ้งมดแดงที่อนุบาลด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกันที่เวลา 12 สัปดาห์

ชุดทดลอง	อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์) ต่อสัปดาห์												
	0^{ns}	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	100±0	82 ± 1.5^{a}	75 ± 3.0^{a}	68 ± 2.3^{ab}	61 ± 3.5^{a}	55 ± 3.5^{a}	51 ± 2.5^{a}	47 ± 1.1^{a}	34 ± 3.2^{a}	32 ± 2.8^{a}	28 ± 2.8^{a}	26 ± 1.7^{a}	21 ± 2.0^{ab}
2	100±0	81 ± 2.1^{a}	75 ± 2.5^{a}	60 ± 1.0^{b}	40 ± 2.6^{b}	30 ± 1.0^{b}	22 ± 1.2^{b}	14 ± 0.6^{b}	11 ± 0.6^{b}	8 ± 1.2^{b}	6 ± 1.0^{b}	4 ± 0.6^{b}	2 ± 0.6^{bc}
3	100±0	80 ± 2.0^{a}	75 ± 3.5^{a}	74 ± 3.5^{a}	62 ± 3.8^{a}	55 ± 3.8^{a}	52 ± 4.0^{a}	46 ± 5.2^{a}	40 ± 6.1^{a}	37 ± 5.9^{a}	35 ± 5.5^{a}	34 ± 5.8^{a}	31 ± 5.8^{a}
4	100±0	30 ± 2.6^{b}	17 ± 2.5^{b}	0.0 ± 0.0^{c}	0.0 ± 0.0^{c}	0.0 ± 0.0^{c}	0.0 ± 0.0^{c}	0.0 ± 0.0^{b}	0.0 ± 0.0^{b}	0.0 ± 0.0^{b}	0.0 ± 0.0^{b}	0.0 ± 0.0^{b}	0.0 ± 0.0^{c}

หมายเหตุ ns คือ non significant แสดงความไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างค่าเฉลี่ยในแนวตั้งเดียวกัน



ภาพที่ 43 อัตรารอดของลูกกุ้งมดแดงที่อนุบาลด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกันที่เวลา 12 สัปดาห์



ภาพที่ 44 ลูกกุ้งมดแดงกำลังจับกินอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท

การเจริญเติบโตของลูกกุ้งมดแดงจากการอนุบาลด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่าง

จากการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกัน 4 ชุดการทดลอง ทำการวัดขนาดลูกกุ้งมดแดง ก่อนและหลังการทดลอง โดยใช้วิธีถ่ายภาพลูกกุ้งภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก 15 วัน (ตารางที่ 20) พบว่าการเจริญเติบโตด้านความยาวก่อนการทดลองเฉลี่ย 1.94±0.01 – 2.08±0.10 มิลลิเมตร นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำค่าความยาวลูกกุ้งมดแดงลงเกาะที่ได้มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยลูกกุ้งจากชุดการทดลองที่ 1 ที่ให้อาทีเมียร์แรกฟักเป็นอาหาร มีความยาวมากที่สุด (14.82±0.85 มิลลิเมตร) ไม่แตกต่างกับชุดการทดลองที่ 3 ที่ให้อาร์ทีเมียร่วมกับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท (14.30±1.11 มิลลิเมตร) แต่แตกต่างกับชุดการทดลองที่ 2 ที่ให้อาร์เมียเป็นเวลา 18 วัน และเริ่มให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทวันที่ 15 พบว่าเมื่อลูกกุ้งมดแดงลงเกาะมีขนาดเพียง 8.90±2.31 มิลลิเมตรเท่านั้น และชุดการทดลองที่ 4 ที่ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเพียงอย่างเดียว พบว่าลูกกุ้งมดแดงไม่สามารถลงเกาะได้ และมีการเจริญเติบโตได้เพียง 15 วันเท่านั้น ซึ่งมีขนาดเฉลี่ยอยู่ที่ 2.70±0.07 มิลลิเมตร

ตารางที่ 20 การเจริญเติบโตด้านความยาวของลูกกุ้งมดแดงที่อนุบาลด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกันที่เวลา 12 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ความยาว (มิลลิเมตร)					
	แรกฟัก[ns]	อายุ 15 วัน	อายุ 30 วัน	อายุ 45 วัน	อายุ 60 วัน	ลูกกุ้งลงเกาะ
1	1.94±0.01	3.78±0.05[ab]	8.10±0.52[a]	11.24±1.16[a]	12.05±1.03[a]	14.82±0.85[a]
2	1.95±0.07	3.56±0.11[b]	6.26±0.23[b]	7.54±0.46[c]	8.08±0.63[b]	8.90±2.31[b]
3	2.08±0.10	4.06±0.48[a]	8.53±0.80[a]	9.15±0.15[b]	12.75±0.52[a]	14.30±1.11[a]
4	2.07±0.14	2.70±0.07[c]	0.00±0.00[c]	0.00±0.00[d]	0.00±0.00[c]	0.00±0.00[c]

ระยะเวลาในการลงเกาะของลูกกุ้งมดแดง

ในระหว่างทำการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกัน 4 ชุดการทดลอง ทำการเก็บข้อมูลในส่วนของระยะเวลาในการลงเกาะของลูกกุ้งมดแดงพบว่า ชุดการทดลองที่ 1 ที่ให้อาทีเมียร์แรกฟักลูกกุ้งลงเกาะเร็วที่สุดที่อายุ 64 วัน และลูกกุ้งลงเกาะครบทุกชุดการทดลองที่อายุ 80 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำข้อมูลระยะเวลาในการลงเกาะของลูกกุ้งมดแดงที่ได้มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยชุดการทดลองที่ 1 ที่ให้อาร์ทีเมียร์แรกฟัก ซึ่งลูกกุ้งลงเกาะที่อายุเฉลี่ย 68.33±5.13 วัน ไม่แตกต่างกับชุดการทดลองที่ 3 ที่ให้อาร์ทีเมียร่วมกับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทมีระยะเวลาในการลงเกาะ 71.67±7.64 วัน แต่แตกต่างกับชุดการทดลองที่ 2 ที่ให้อาร์เมียเป็นเวลา 18 วัน และเริ่มให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทวันที่ 15 มีระยะเวลาในการลงเกาะเฉลี่ย 80.00±0.00 วัน และชุดการทดลองที่ 4 ที่ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเพียงอย่างเดียว พบว่าลูกกุ้งมดแดงไม่สามารถลงเกาะได้ และตายตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 เป็นต้นไป (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 21 ระยะเวลาในการลงเกาะของลูกกุ้งมดแดงที่อนุบาลด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกัน

ชุดการทดลอง	อายุ (วัน)
1	68.33±5.13[b]
2	80.00±0.00[a]
3	71.67±7.64[ab]
4	0.00±0.00[c]

คุณภาพน้ำระหว่างการทดลอง

ในระหว่างการทดลองพบว่าค่าอุณหภูมิน้ำมีค่าอยู่ระหว่าง 25.92±0.59 - 26.59±0.61 องศาเซลเซียส, ค่าความเค็มอยู่ระหว่าง 31.00±2.08 - 31.20±1.42 ppt, ปริมาณแอมโมเนียรวม-ไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 0.17±0.10 - 0.19±0.11 มิลลิกรัมต่อลิตร, ปริมาณไนไตรท์-ไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 0.01±0.0 - 0.01±0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าความเป็นด่างของน้ำอยู่ระหว่าง 94.22±1.99 - 95.55±4.26 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 22) เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05)

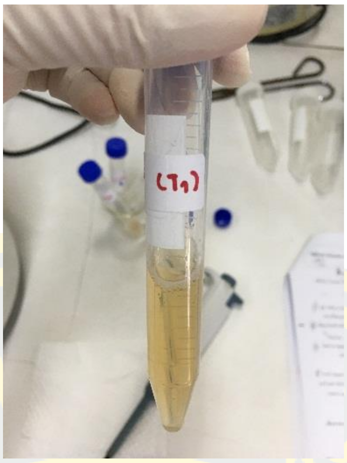
ตารางที่ 22 คุณภาพน้ำระหว่างการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกัน

ชุดการทดลอง	**Temp (°C)^{ns}**	**Salinity (ppt)^{ns}**	**total ammonia (mg./l)^{ns}**	**nitrite-nitrogen (mg./l)^{ns}**	**alkalinity (mg./l)^{ns}**
1	26.41±0.41	31.20±1.42	0.17±0.10	0.01±0.01	95.50±2.50
2	26.43±0.31	31.40±0.48	0.17±0.03	0.01±0.02	95.30±2.96
3	26.59±0.61	31.00±2.08	0.19±0.01	0.01±0.00	94.55±4.26
4	25.92±0.59	31.16±1.89	0.19±0.11	0.01±0.00	94.22±1.99

หมายเหตุ ns คือ non significant แสดงความไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างค่าเฉลี่ยในแนวตั้งเดียวกัน

3. การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์จากลูกกุ้งมดแดง

จากการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกันทั้ง 4 ชุดการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าชุดการทดลองที่ 4 ที่ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทตลอดการทดลอง ลูกกุ้งมดแดงตายตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 และชุดการทดลองที่ 2 ที่ให้อาร์เมียเป็นเวลา 18 วัน และเริ่มให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทวันที่ 15 พบว่าลูกกุ้งมดแดงมีจำนวนตัวที่รอดตายไม่เพียงพอต่อการนำทดสอบ ในชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 4 จึงไม่มีตัวอย่างในการนำมาศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ ซึ่งสามารถทำการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในลูกกุ้งชุดการทดลองที่ 1 ที่ให้อาร์ทีเมียเป็นอาหาร และชุดการทดลองที่ 3 ที่ให้อาร์ทีเมียร่วมกับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเท่านั้น โดยนำตัวอย่างลูกกุ้งมดแดงทำการสกัดเอนไซม์ และจากนั้นนำไปวิเคราะห์หากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ (ภาพที่ 45) ดังนี้



ภาพที่ 45 ลักษณะของเอนไซม์ที่สกัดได้จากลูกกุ้งมดแดง

3.1 กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส

นำตัวอย่างลูกกุ้งมดแดงจากชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 3 มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเอนไซม์สกัดด้วยวิธี Lowry method พบว่าชุดการทดลองที่ 1 มีปริมาณโปรตีนเฉลี่ย 8.47±0.59 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และชุดการทดลองที่ 3 มีปริมาณโปรตีน 8.40±0.11 มิลลิกรัมต่อลิตร นำข้อมูลที่ได้มาใช้คำนวณในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากลูกกุ้งมดแดงที่ทำการอนุบาลด้วยอาหารที่แตกต่างกันในชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 3 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสในชุดการทดลองที่ 3 ที่ให้อาร์ทีเมียร่วมกับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทมีค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสเฉลี่ย 0.73±0.004 Unit/hr/mg protein มีค่าสูงกว่าชุดการทดลองที่ 1 ที่ให้อาร์ทีเมียเป็นอาหารซึ่งมีค่ากิจกรรมเฉลี่ย 0.59±0.00 Unit/hr/mg protein (ตารางที่ 23)

1.2 กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน

ผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินที่สกัดจากลูกกุ้งมดแดงที่ทำการอนุบาลด้วยการให้อาหารที่แตกต่างกันในชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 3 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินในชุดการทดลองที่ 3 ที่ให้อาร์ทีเมียร่วมกับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทมีค่ากิจกรรมเฉลี่ย 0.87±0.01 umol *p*-Nitroaniline/hr/mg protein มีค่าสูงกว่าชุดการทดลองที่ 1 ที่ให้ อาร์ทีเมียเป็นอาหาร ซึ่งมีค่ากิจกรรมเฉลี่ย 0.22±0.01 umol *p*-Nitroaniline/hr/mg protein (ตารางที่ 23)

1.3 กิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซิน

ผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซินที่สกัดจากลูกกุ้งมดแดงที่ทำการอนุบาลด้วยการให้อาหารที่แตกต่างกันในชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 3 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซินในชุดการทดลองที่ 3 ที่ให้อาร์ทีเมียร่วมกับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทมีค่ากิจกรรมเฉลี่ย 0.095±0.02 umol *p*-Nitroaniline/hr/mg protein มีค่าสูงกว่าชุดการทดลองที่ 1 ที่ให้ อาร์ทีเมียเป็นอาหาร ซึ่งมีค่ากิจกรรมเฉลี่ย 0.035±0.01 umol *p*-Nitroaniline/hr/mg protein (ตารางที่ 23)

ตารางที่ 23 กิจกรรมเอนไซม์จากการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยรูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกัน

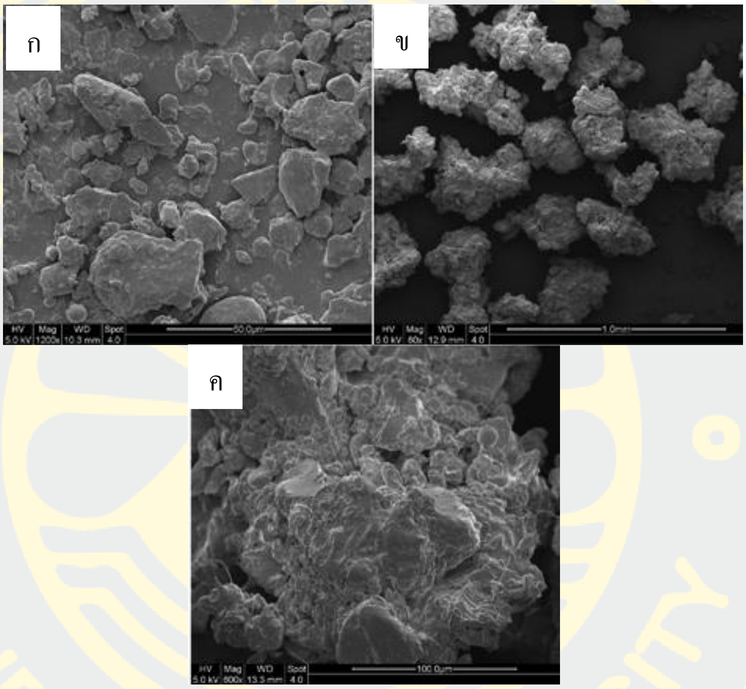
ชุดการทดลอง	**โปรติเอส (Unit/hr/mg protein)**	**ทริปซิน (umol *p*-Nitroaniline/hr/mg protein)**	**ไคโมทริปซิน (umol *p*-Nitroaniline/hr/mg protein)**	**T/C ratio**
1	0.59±0.00	0.22±0.01	0.035±0.01	6.29
3	0.73±0.004	0.87±0.01	0.095±0.02	9.16

บทที่ 5
วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย

วิจารณ์ผลการวิจัย

อาหารเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเลี้ยงและอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน ที่มีผลต่อพัฒนาการ การเจริญเติบโต อัตรารอด การดำรงชีวิต และการสืบพันธุ์ของสัตว์น้ำ (Wouters and Fegan, 2004) โภชนาการสัตว์น้ำวัยอ่อนมีความต้องการสารอาหารที่แตกต่างกันออกไป โดยความต้องการสารอาหารสำหรับเลี้ยงลูกกุ้งวัยอ่อน พบว่าลูกกุ้งวัยอ่อนมีความต้องการโปรตีนประมาณ 45-57 เปอร์เซ็นต์ ไขมันประมาณ 10-29 เปอร์เซ็นต์ เถ้าประมาณ 7-18 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นประมาณ 3-8 เปอร์เซ็นต์ (Wouters and Fegan, 2004) จากการศึกษาครั้งนี้จึงได้มีการกำหนดวัตถุดิบอาหารที่ใช้เป็นส่วนผสมในการเตรียมอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทให้สอดคล้องกับความต้องการสารอาหารในลูกกุ้งวัยอ่อนโดยอ้างอิงจากความต้องการทางโภชนาการและอาหารของลูกกุ้งวัยอ่อนดัดแปลงจาก Wouters and Fegan (2004) เมื่อนำอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณโภชนาการในอาหาร พบว่ามีความสอดคล้องกับความต้องการสารอาหารที่ได้มีการรายงานไว้ คือ มีปริมาณโปรตีนอยู่ที่ 48.53 เปอร์เซ็นต์ ไขมันอยู่ที่ 14.93 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานประมาณ 360 กิโลแคลลอรี่ เช่นเดียวกับ Kattakdad, Jintasataporn, Worawattanamateekul and Chumkam (2018) ที่ได้ทำการศึกษาการนำอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทไปใช้ในการอนุบาลลูกกุ้ง *Caridina cantonensis* พบว่าข้อมูลทางโภชนาการของอาหารที่ทำการศึกษามีปริมาณโปรตีน 48.63–52.64 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 11.19-13.19 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 4.96-5.38 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 5.22-6.93 เปอร์เซ็นต์ นำองค์ประกอบที่ได้มาเตรียมเป็นอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทโดยใช้วิธีการพอลิเมอร์ไรเซชันแบบเชื่อมต่อกับ Na alginate ซึ่งวิธีการนี้ปฏิกิริยาระหว่าง polyelectrolytes ที่มีประจุตรงข้ามกันส่งผลให้เกิดการสร้างที่ซับซ้อนขึ้น ความสามารถในการละลายลดลง เปลือกของพอลิเมอร์จะเคลือบสารแกนกลางไว้โดยเกิดจากปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันโมโนเมอร์หรือโพลิเมอร์สายสั้นที่บริเวณผิวของไมโครแคปซูล ทำให้ได้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่มีการกระจายตัวของอนุภาคต่ำ และมีขนาดเล็ก (Jabeen et al., 2016) โดยพบว่าอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่ได้มีขนาด 420±89 ไมโครเมตร ซึ่งมีขนาดใกล้เคียงกับอาร์ทีเมียแรกฟักที่ใช้ในการทดลองที่มีขนาดความยาวประมาณ 400-520 ไมโครเมตร โดยอาหารที่ได้มีรูปร่างลักษณะพื้นผิวเรียบ มีหลายรูปทรง ขนาดสม่ำเสมอ มีความคงตัวของอาหาร และมีลักษณะเป็นเม็ดอาหารไม่จับตัวเป็นก้อนคล้ายกันกับ Xie, Wang, Liu and Guo (2010) ที่ทำการศึกษาอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่มีผนัง

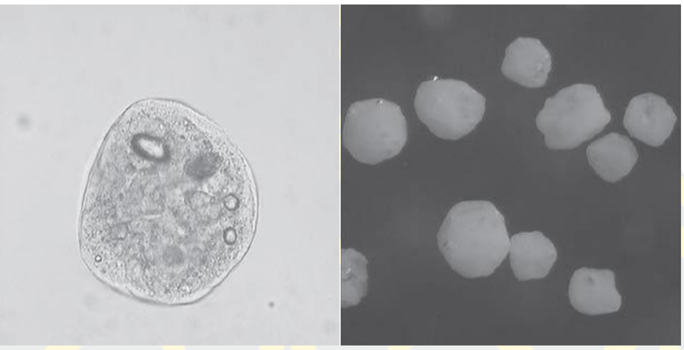
เจลาตินหุ้ม ผลิตโดยใช้กระบวนการเคลือบ fluidized bed พบว่าอาหารที่ได้มีการกระจายตัวแบบปกติ เมื่อนำอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่ได้ไปสแกนภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (ภาพที่ 46) แสดงให้เห็นลักษณะของอาหารที่มีการห่อหุ้มด้วยไมโครแคปซูลที่มีพื้นผิวของอาหารที่ถูกเคลือบแสดงฟิล์มที่เรียบสม่ำเสมอ และต่อเนื่องรอบแกนกลาง มีการชะล้าง และมีอัตราการจมของอาหารที่ต่ำ



ภาพที่ 46 อาหารไมโครแคปซูลที่มีผนังเจลาตินก่อนการเคลือบ (ก) และหลังการเคลือบ (ข,ค)
ที่มา: Xie et al. (2010)

เมื่อนำอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่ได้มาวิเคราะห์ความเสถียรของอนุภาคเพื่อหาการสูญเสียทั้งหมดหลังจากการคืนสภาพเป็นเวลา 30 นาที, 1, 2, 3, 4 และ 24 ชั่วโมง พบว่าขนาดอนุภาคของอาหารมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย และรูปร่างลักษณะยังคงสภาพเดิมเหมือนกับอาหารก่อนการแช่ในน้ำ เนื่องจากไมโครเอนแคปซูลเลทที่มีไขมันหรือเปลือกห่อหุ้มที่ไม่ละลายน้ำสามารถเก็บรักษาส่วนประกอบของอาหารที่ละลายน้ำได้ เมื่อแคปซูลถูกแช่ในน้ำ โดยเปลือกที่หุ้มอาหารมีคุณสมบัติเชิงกลที่สามารถต้านทานการไล่ระดับแรงดันออสโมติกที่เกิดขึ้นได้ (Yufera et al., 1999) และผนังแคปซูลจะช่วยรักษาความสมบูรณ์ของอนุภาคอาหารจนกว่าอาหารจะถูกสัตว์น้ำกิน เพื่อป้องกันการชะละลายของสารอาหารจากเม็ดอาหารเมื่ออยู่ในน้ำ (Kolkovski, 2013) (ภาพที่ 47) การใช้เทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันในการห่อหุ้มอาหารควรมีการพิจารณาในเรื่องของ

ขนาด การลอยตัว สี และการแตกตัวของแคปซูลในลำไส้ของตัวอ่อนด้วย และพบว่าอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทสามารถเป็นตัวนำส่งสารอาหารสำคัญที่มีไม่เพียงพอในร่างกายของสัตว์น้ำวัยอ่อนได้ด้วย (Yuferra et al, 1999)

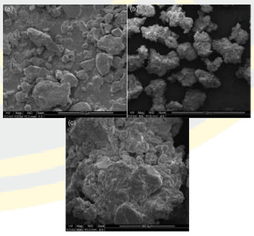
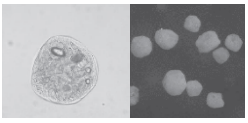


ภาพที่ 47 ลักษณะอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเมื่ออยู่ในน้ำ
ที่มา: Kolkovski (2013)

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ (Soluble protein) ในอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่เวลาต่าง ๆ กัน คือ 0, 5, 15, 30 และ 60 นาที พบว่ามีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ โดยมีอัตราการสูญเสียโปรตีนอยู่ระหว่าง 2.58 – 3.16 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Sukardi et al. (2018) ในการทดสอบการชะละลายในอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ขนาด 100 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร โดยใช้สารละลายฟีนอลสีแดงเพื่อประเมินการแตกของผนังไมโครเอนแคปซูลเลทและอัตราการสูญเสียสารอาหารที่ละลายน้ำได้ แช่น้ำไว้เป็นเวลา 0, 1, 2, และ 4 ชั่วโมง พบว่า อัตราการชะละลายอยู่ในช่วง 0-4 ชั่วโมง มีค่าค่อนข้างต่ำอยู่ที่ 1.75-5.44 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการชะละลายที่ 0 ชั่วโมง เริ่มมีการชะละลายสารอาหารเพิ่มขึ้นที่ 1 ชั่วโมง การชะละลายหลังจาก 2 ชั่วโมงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการแช่ที่ 1 ชั่วโมง ที่การแช่ 4 ชั่วโมงมีการชะละลายสารอาหารแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการแช่ที่ 2, 1 และ 0 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าอัตราการชะละลายจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการแช่น้ำอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าปริมาณการสูญเสียโปรตีนที่ละลายได้จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการแช่น้ำเช่นกัน แต่มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ แต่พบการรายงานปัญหาหนึ่งของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทคืออนุภาคมีอัตราการชะละลายกรดอะมิโนสูง ยกตัวอย่างการชะละลายของโมเลกุลโปรตีนของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ เจลาติน-แอลจิเนต, อนุภาค Zein-bound ที่พ่นด้วยสเปย์ และละลองน้ำแบบฉีดน้ำ หลังจากแช่ในน้ำ 5 นาที พบการชะละลายโปรตีนในอัตรา 80-98 เปอร์เซ็นต์, 43-54 เปอร์เซ็นต์ และ 4-6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

(Kavale et al., 2006) ดังนั้นอนุภาคอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทจำเป็นต้องมีความสมดุลที่ดีระหว่างการชะละลายกรดอะมิโนและสารอาหารอื่น ๆ เพื่อทำหน้าที่เป็นตัวช่วยในการดึงดูดการกินอาหาร และการย่อยได้ของอนุภาค เพื่อให้มีความเหมาะสมกับระบบย่อยอาหารของตัวอ่อนที่ยังไม่พัฒนา โดยอนุภาคที่แข็งจนเกินไป และมีความต้านทานต่อการถูกชะละลายของสารอาหารจะมีผลต่อระบบย่อยอาหารของตัวอ่อน ในขณะที่อนุภาคที่ย่อยได้ง่ายในลำไส้ก็จะมีการสลายของอาหารได้อย่างรวดเร็วในน้ำ (Kolkovski, 2013)

ตารางที่ 24 เปรียบเทียบงานวิจัยลักษณะของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทสำหรับอนุบาลสัตว์น้ำ

การศึกษา	โภชนาการ	ลักษณะอาหาร	อัตราการชะละลาย
งานวิจัย	โปรตีน 48.53% ไขมัน 14.93 % พลังงาน 360 กิโลแคลลอรี่	พื้นผิวเรียบ มีหลายรูปทรง ขนาดสม่ำเสมอ มีความคงตัวของอาหาร และมีลักษณะเป็นเม็ดอาหารไม่จับตัวเป็นก้อน	เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ค่อนข้างต่ำ 2.58 - 3.16%
Wouters and Fegan (2004)	โปรตีน 45-57% ไขมัน 10-29 % เถ้า 7-18% ความชื้น 3-8%		
Kattakdad et al. (2018)	โปรตีน 48.63–52.64 % ไขมัน 11.19-13.19 % เยื่อใย 4.96-5.38 % เถ้า 5.22-6.93 %		
Xie et al. (2010)			แสดงฟิล์มที่เรียบสม่ำเสมอและต่อเนื่องรอบแกนกลาง มีการชะล้าง และมีอัตราการจมของอาหารที่ต่ำ
Kolkovski (2013)			ผนังแคปซูลจะช่วยรักษาความสมบูรณ์ของอนุภาคเพื่อป้องกันการชะละลายของสารอาหารจากเม็ดอาหารเมื่ออยู่ในน้ำ
Sukardi et al. (2018)			เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ค่อนข้างต่ำ 1.75-5.44%
Kavale et al. (2006)			การชะละลายอัตราสูง 80-98%, 43-54% และ 4-6 %

ในส่วนของการศึกษารูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกัน พ่อแม่พันธุ์กุ้งมดแดงที่นำมาใช้ในครั้งนี้เป็นพ่อแม่พันธุ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง จำนวนตัวอ่อนที่ฟักอยู่ระหว่าง 1,000 - 2,500 ตัว ที่อุณหภูมิน้ำ 27 ± 1.58 องศาเซลเซียส ความเค็ม 32 ± 1.48 ppt ค่ากรดด่าง 7.9 ± 0.1 ค่าความเป็นด่าง 102 ± 5.74 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน 0.01±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นคุณภาพน้ำที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงกุ้งมดแดง เช่นเดียวกับการรายงานของชมพูนุช หลักดี (2554) ในการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งมดแดง แม่พันธุ์กุ้งมดแดงจะมีการฟักไข่แต่ละครั้งตั้งแต่ 772 – 1,958 ตัว ที่อุณหภูมิน้ำ 27 ± 1.0 องศาเซลเซียส ความเค็ม 30 ± 1.00 ppt. ค่ากรดด่าง 7.9-8.2 ค่าความเป็นด่าง 120 – 140 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยลูกกุ้งมดแดงที่ฟักออกจากไข่จะมีความยาวเฉลี่ย 1.96 ± 0.13 มิลลิเมตร เช่นเดียวกับ ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563) ที่ทำการศึกษาพัฒนาการของลูกกุ้งมดแดงตั้งแต่ระยะแรกฟักจนถึงระยะลงเกาะ พบว่าลูกกุ้งมดแดงแรกฟัก หรือระยะซูเอีย 1 มีความยาวเฉลี่ย 2.18 ± 0.34 มิลลิเมตร

ก่อนเริ่มทำการศึกษารูปแบบการให้อาหาร ได้มีการศึกษาการทดลองเปรียบเทียบชนิดอาหารมีชีวิต กับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ที่มีผลต่ออัตราการรอดตายของลูกกุ้งมดแดง *R. durbanensis* เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อพิจารณาจากผลการทดลอง พบว่าชนิดอาหารที่เหมาะสมต่อการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงช่วงอนุบาลตั้งแต่แรกฟัก จนถึงช่วงอายุ 4 สัปดาห์ ควรอนุบาลด้วยอาหารมีชีวิตเป็นหลัก ซึ่งอ้างอิงจากผลการทดลอง โดยพบอัตรารอดสูงที่สุด คือ ชุดการทดลองที่ 5 ที่ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทร่วมกับอาร์ทีเมียแรกฟัก รองลงมา คือ ชุดการทดลองที่ 1 ที่ให้อาร์ทีเมียแรกฟัก, ชุดการทดลองที่ 3 ที่ให้อาร์ทีเมียแรกฟักร่วมกับโรติเฟอร์, ชุดการทดลองที่ 2 ที่ให้โรติเฟอร์ และชุดการทดลองที่ 4 ที่ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ตามลำดับ ซึ่งชุดการทดลองที่ 5, 1, 3, 2 ประกอบไปด้วยสิ่งทดลองที่เป็นอาหารมีชีวิตทุกชุดการทดลอง และชุดการทดลองที่ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเพียงชนิดเดียว คือ ชุดการทดลองที่ 4 พบว่าลูกกุ้งมดแดงตายหมดตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 เมื่อพิจารณาจากลักษณะทางชีววิทยาของลูกกุ้งมดแดง พฤติกรรมการว่ายน้ำ และการกินอาหาร ก็พบว่าช่วงวัยอ่อนลูกกุ้งมีพฤติกรรมล่องลอยอยู่ในมวลน้ำ เป็นช่วงแพลงก์ตอน ดังนั้นอาหารมีชีวิตที่ทำการทดลองในครั้งนี้ มีผลต่อการรอดตายของลูกกุ้งมดแดงได้ เช่นเดียวกับ ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563) ที่ทำการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงเบื้องต้นด้วยโรติเฟอร์ อาร์ทีเมีย และแพลงก์ตอนพืช พบว่าลูกกุ้งมดแดงมีอัตรารอดที่ดีที่สุดเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามการให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทในการทดลอง ก็พบว่าลูกกุ้งสามารถเกาะกินอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทได้เช่นกัน ซึ่งเมื่อพิจารณาจากชุดการทดลองที่ 5 ที่ให้อาหารร่วมกันระหว่างอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท กับอาหารมีชีวิต มีอัตรารอดตายสูงที่สุด ผู้วิจัยคาดว่าน่าจะมีความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทร่วมกับอาหารมีชีวิต โดยเมื่อพิจารณาความต้องการสารอาหาร

โดยเฉพาะในกลุ่มโปรตีนนั้น พบว่ากุ้งจะมีความต้องการโปรตีนที่แตกต่างกันออกไปตามขนาด โดยกุ้งขนาดเล็กจะมีความต้องการโปรตีนที่สูงกว่ากุ้งขนาดใหญ่ โดยโปรตีนที่กำหนดไว้สำหรับลูกกุ้งวัยอ่อนมีโปรตีนประมาณ 30-50 เปอร์เซ็นต์ (Conklinand et al., 1980) จึงอาจเป็นไปได้ที่ทำให้ลูกกุ้งมดแดงที่อนุบาลด้วยอาหารมีชีวิตร่วมกับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทมีอัตรารอดที่ดี เนื่องจากได้รับโปรตีนที่เพียงพอจากทั้งอาหารมีชีวิตและอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท เช่นเดียวกับรายงานการให้อาหารร่วมกันระหว่างอาหารกลุ่มไมโครเอนแคปซูลเลท และอาหารมีชีวิต เป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดความสำเร็จในการให้อาหารร่วมกัน ประการแรกคือเป็นตัวช่วยในการกระตุ้นสารเคมีในการย่อยอาหารอนุภาคเฉื่อย และบ่งบอกถึงการยอมรับอาหารสำเร็จรูป (Canavate and Fernandez-Diaz, 1999) ประการที่สองเนื่องจากอาหารไมโครเอนแคปซูเลทมีโครงสร้างของอนุภาคที่ค่อนข้างเหมาะสม สามารถกำหนดสารอาหารและป้องกันการชะละลายของสารอาหารที่มากเกินไป และควบคุมคุณภาพน้ำที่จะตามมาได้ เช่นเดียวกับรายงานของ Yúfera et al. (2005) พบว่าอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท เป็นอีกทางเลือกที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนได้ เพราะอนุภาคที่เสถียรภาพ ควบคุมสารอาหารและคุณภาพน้ำให้คงที่ได้ สอดคล้องกับการรายงานของ Baskerville-Bridges and Kling (2000); Clarissa (2003); Wittenrich (2007) รายงานว่าการอนุบาลลูกปลาทะเลวัยอ่อน ส่วนใหญ่จะให้อาหารมีชีวิต เช่น โรติเฟอร์, อาร์ทีเมียแรกฟัก เป็นอาหารหลักที่ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่นเดียวกับการทดลองให้อาหารมีชีวิตในกลุ่มสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังเช่นเดียวกับกุ้งมดแดงของ สุรชาต ฉวีภักดิ์, ธิดาพร ฉวีภักดิ์ และบุญยี่ หมื่นไธสง (2558) ทำการศึกษาผลของอาร์ทีเมีย ต่อผลผลิต อัตราการรอดตาย และระยะเวลาการพัฒนาเข้าระยะ post larva ของกั้งตั๊กแตน (*Harpiosquilla raphidea* Fabricius, 1798) แบ่งการให้อาร์ทีเมียออกเป็น 3 ชุดการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่ 1-3 กั้งตั๊กแตนมีอัตราการรอดตายเฉลี่ยร้อยละ 0.22±0.15, 9.81±1.68 และ 16.39±6.14 ตามลำดับ ($P<0.05$) และพบว่าค่าคุณภาพน้ำด้านค่าความเค็ม ค่าความเป็นกรดด่าง ค่าไนไตรท์ และค่าความเป็นด่างของน้ำในถังอนุบาลตลอดการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน ไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้ ที่พบว่าแต่ละชุดการทดลองปัจจัยแวดล้อมด้านคุณภาพน้ำ มีค่าใกล้เคียงกัน ไม่มีความแตกต่างกัน เช่นเดียวกับ ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563) ที่ทำการศึกษาพัฒนาการและการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงเบื้องต้น พบว่าค่าคุณภาพน้ำในระหว่างการทดลองไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีค่าความเค็มอยู่ระหว่าง 32-33 ppt ค่าความเป็นด่างของน้ำอยู่ระหว่าง 90-115 มิลลิกรัมต่อลิตร แอมโมเนียรวมอยู่ระหว่าง 0.051-0.193 มิลลิกรัมต่อลิตร และไนไตรท์-ไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 0.00-0.35 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับชมพูนุช หลักดี (2554) ที่ทำการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงพบว่าอุณหภูมิน้ำ 27±1.0 องศาเซลเซียส ความเค็ม 30±1.0 ส่วนในพัน ค่าความเป็นกรดเป็นด่างอยู่

ระหว่าง 7.9-8.2 และค่าความเป็นด่างของน้ำอยู่ระหว่าง 120-140 มิลลิกรัมต่อลิตร ในส่วนของคุณภาพน้ำปัญหาที่สำคัญที่สุดของอนุภาคไมโครแคปซูลคือไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ อนุภาคจะจมลงสู่ก้นถัง โดยที่ตัวอ่อนยังไม่ได้มีการจับกิน การทำความสะอาดในถังเลี้ยงจึงมีความจำเป็นเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพควบคู่ไปกับการควบคุมอย่างถูกสุขลักษณะ (Kolkovski, 2013)

ในส่วนของการศึกษารูปแบบการให้อาหารที่แตกต่างกัน ที่มีผลต่ออัตรารอด การเจริญเติบโต และระยะเวลาในการลงเกาะของลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อนตั้งแต่แรกฟักจนถึงระยะที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง พบว่าการให้อาหารร่วมกันระหว่างอาหารมีชีวิตและอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทในชุดการทดลองที่ 3 มีอัตรารอดตายสูงที่สุด (31±5.8 เปอร์เซ็นต์) ระยะเวลาที่ใช้ในการลงเกาะชุดการทดลองที่ให้อาร์ทีเมียแรกฟักมีพัฒนาการเร็วที่สุด (68.33±5.13 วัน) และการเจริญเติบโตด้านความยาวของชุดการทดลองที่ 1 ที่ให้อาร์ทีเมียแรกฟักเป็นอาหาร และชุดการทดลองที่ 3 ที่ให้อาร์ทีเมียร่วมกับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ความยาวของลูกกุ้งมดแดงไม่มีความแตกต่างกัน (14.82±0.85 มิลลิเมตร, 14.30±1.11 มิลลิเมตร) แสดงให้เห็นถึงการยอมรับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทในลูกกุ้งมดแดง เช่นเดียวกับ Xie et al. (2010) ที่ทำการศึกษาอาหารไมโครแคปซูลที่ผลิตโดยใช้กระบวนการเคลือบ fluidized bed สำหรับลูกกุ้งกุลาดำวัยอ่อน (*Penaeus japonicus*) ร่วมกับการเลี้ยงด้วยอาหารมีชีวิต (อาร์ทีเมีย) โดยแบ่งเป็น 3 ชุดการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ 1 ให้อาร์ทีเมีย และเนื้อกุ้ง ชุดการทดลองที่ 2 ให้อาร์ทีเมีย เนื้อกุ้งร่วมกับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท และชุดการทดลองที่ 3 ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเพียงอย่างเดียว การทดลองแสดงให้เห็นว่าลูกกุ้งมีการยอมรับอาหาร โดยการเจริญเติบโตในส่วนของน้ำหนักและความยาวเมื่อนำมาเปรียบเทียบกันพบว่ามีความแตกต่างกัน ($p<0.05$) ในส่วนของอัตรารอดในชุดการทดลองที่ 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างกันแต่แตกต่างกับชุดทดลองที่ 3 ที่มีอัตรารอดสูงสุด จากการศึกษาแสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการใช้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเพื่อทดแทน และใช้ร่วมกันสำหรับลูกกุ้งวัยอ่อนได้ เช่นเดียวกับ Kovalenko et al. (2002) ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) ด้วยอาหารขนาดเล็ก เปรียบเทียบกับการเลี้ยงด้วยอาหารมีชีวิต (อาร์ทีเมีย) ในระบบการเพาะเลี้ยงแบบหมุนเวียนที่มีการควบคุมอุณหภูมิ (28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน วงจรชีวิตของลูกกุ้งวัยอ่อนมีความใกล้เคียงกับการเลี้ยงด้วยอาหารมีชีวิต (อาร์ทีเมีย) อัตรารอด และการเจริญเติบโตของลูกกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารขนาดเล็กในครั้งนี้มากกว่าการทดสอบในการศึกษาที่ผ่านมา การตอบสนองต่อการเจริญเติบโตลดลงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับอาร์ทีเมียมีชีวิต สำหรับความสำเร็จของอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนเป็นการสร้างพื้นฐานในการประยุกต์ใช้ที่เป็นประโยชน์ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน การศึกษาความต้องการโภชนาการของลูกกุ้ง ลูกปลา และสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ ต่อไป Hoseinifar and Zare (2013) ได้ทำการศึกษาผลของการ

เปลี่ยนอาหารมีชีวิต ด้วยอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทในกุ้งขาวอินเดีย (*Fenneropenaeus indicus*) พบว่าอัตรารอดดีที่สุดชุดการทดลองที่ให้อาร์มีเมีย ในชุดการทดลองที่ให้อาหารร่วมกัน และชุดการทดลองที่ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเพียงอย่างเดียวไม่มีความแตกต่างกัน การเจริญเติบโตด้านความยาวของลูกกุ้งที่ให้อาร์ทีเมียดีที่สุด ($p<0.05$) น้ำหนักดีที่สุดในชุดการทดลองที่ให้อาร์ทีเมีย ในชุดการทดลองที่ให้อาหารร่วมกันและให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเพียงอย่างเดียวไม่มีความแตกต่างกัน แสดงให้เห็นถึงการยอมรับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท แต่อย่างไรการอนุบาลด้วยอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเพื่อใช้ทดแทนอาหารมีชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ยังคงไม่สามารถทำได้ เนื่องจากส่งผลทำให้การเจริญเติบโต และอัตรารอด ไม่มีประสิทธิภาพมากนัก จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อเพิ่มศักยภาพของอาหารที่ดีขึ้น แตกต่างกับ Xie et al. (2013) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการกักเก็บสารอาหารของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทในสารละลายเจลาติน และเอทิลเซลลูโลส พบว่าลูกกุ้ง *P. japonicas* ที่ได้รับอาหารทั้ง 2 ชนิด มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าลูกกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาร์ทีเมียและกุ้งแผ่น ส่วนประกอบของสารอาหารภายในลำไส้ของลูกกุ้งวัยอ่อนเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ แสดงให้เห็นว่าอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทมีลักษณะการปลดปล่อยสารอาหารอย่างช้า ๆ และสามารถควบคุมในระบบทางเดินอาหารของลูกกุ้งวัยอ่อนได้ การให้อาหารร่วมกันระหว่างอาร์ทีเมียและอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท จะเพิ่มอัตราการกินของลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อน แสดงให้เห็นจากการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น และการให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทตั้งแต่ลูกกุ้งมดแดงแรกฟักพฤติกรรมการกินอาหารของลูกกุ้งไม่ดีนัก ทำให้ลูกกุ้งมีอัตรารอดที่ไม่ดี โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อการกินอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท เช่น ขนาดของตัวอ่อน การกระตุ้นทางสายตาหรือทางเคมี เนื้อสัมผัส รสชาติ และสีของไมโครเอนแคปซูลเลท (Fernandez-Dıaz and Yuferra, 1997) ซึ่งการตอบสนองทางสรีรวิทยาต่อสัตว์น้ำวัยอ่อนสามารถกระตุ้นด้วยอาหารมีชีวิต เพื่อให้อัตราการกินอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเพิ่มขึ้น เมื่อมีการให้อาหารร่วมกัน (Koven, et al., 2001)

พัฒนาการของลูกกุ้งมดแดงตั้งแต่แรกฟักจนถึงระยะลงเกาะในแต่ละชุดการทดลองใช้ระยะเวลาตั้งแต่ 64 – 80 วัน โดยลูกกุ้งที่มีการพัฒนาเร็วที่สุดคือชุดการทดลองที่ให้อาร์ทีเมียเป็นอาหาร และชุดการทดลองที่มีพัฒนาการช้าที่สุดคือชุดการทดลองที่ให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเพียงอย่างเดียว เมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาของตัวอ่อนกุ้งมดแดงพบว่ามีความสอดคล้องกับการศึกษาของศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563) ที่ทำการศึกษาการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงเบื้องต้นด้วยอาร์ทีเมียและโรติเฟอร์เสริมด้วยแพลงก์ตอนพืชต่างชนิดกัน พบว่าลูกกุ้งมดแดงใช้ระยะเวลาในการลงเกาะ 48 – 68 วัน เช่นเดียวกับ ชมพูนุช หลักดี (2554) ที่ทำการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยแพลงก์ตอนพืช โรติเฟอร์ อาร์ทีเมีย และอาหารผสม พบว่าลูกกุ้งมดแดงมีการพัฒนาจากระยะซูเอีย ถึงระยะลงเกาะใช้ระยะเวลาประมาณ 35 – 84 วัน

ตารางที่ 25 การอนุบาลลูกกุ้งมดแดงและการทดสอบอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทในสัตว์น้ำ

การศึกษา	จำนวน/ขนาดลูกกุ้งแรกฟัก/ระยะเวลาในการลงเกาะ	การยอมรับอาหาร	คุณภาพน้ำ
งานวิจัย	1,000 - 2,500 ตัว/ความยาวเฉลี่ย 1.96 ± 0.13 มิลลิเมตร/ 64-80 วัน	การให้อาหารร่วมกันระหว่างอาร์ทีเมียและอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทมีอัตรารอด การเจริญเติบโตที่ดี	อุณหภูมิ 25-26 ºC ความเค็ม 31 ppt แอมโมเนียรวม 0.17-0.19 มก.ลิตร ไนไตรท์-ไนโตรเจน 0.01 มก.ต่อลิตร ค่าความเป็นด่างของน้ำ 94-95 มก.ลิตร
ศิริวรรณ ชูศรี และคณะ (2563)	ความยาวเฉลี่ย 2.18 ± 0.34 มิลลิเมตร/ 48-68 วัน		ความเค็ม 32-33 ppt ค่าความเป็นด่างของน้ำ 90-115 มก.ต่อลิตร แอมโมเนียรวม 0.051-0.193 มก.ต่อลิตร และไนไตรท์-ไนโตรเจนอยู่ 0.00-0.35 มก.ต่อลิตร
ชมพูนุช หลักดี (2554)	772 – 1,958 ตัว/ 35-84 วัน		อุณหภูมิ 27±1.0 ºC ความเค็ม 30±1.0 ppt ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 7.9-8.2 และค่าความเป็นด่างของน้ำ 120-140 มก.ต่อลิตร
Xie et al. (2010)		ลูกกุ้งกุลาดำมีการยอมรับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท มีอัตรารอดสูงสุด สามารถใช้ทดแทนอาหารมีชีวิตได้	
Kovalenko et al. (2002)		ลูกกุ้งก้ามกรามมีการยอมรับอาหารขนาดเล็ก วงจรชีวิต อัตรารอด การเจริญเติบโตมีค่าใกล้เคียงกับการเลี้ยงด้วยอาร์ทีเมีย	
Hoseinifar and Zare (2013)		ลูกกุ้งขาวอินเดียมีการยอมรับอาหารไมโครแคปซูล แต่การทดแทนอาหารมีชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ยังคงส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโต และอัตรารอด	
Xie et al. (2013)		ลูกกุ้งที่ได้รับอาหารไมโครเอนแคปซูล 2 ชนิด มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าลูกกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาร์ทีเมียและกุ้งแผ่น	

ในการศึกษาครั้งนี้ลูกกุ้งมดแดงมีการยอมรับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ทราบได้จากการรายงานผลในชุดการทดลองที่ 2 ที่ให้อาร์เมียเป็นเวลา 18 วัน และเริ่มให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทวันที่ 15 และชุดการทดลองที่ 3 ที่ให้อาร์ทีเมียร่วมกับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท พบว่าลูกกุ้งมดแดงสามารถพัฒนาไปถึงระยะลงเกาะได้หลังจากที่กินอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเข้าไป โดยการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมของตัวอ่อน แสดงให้เห็นถึงความสามารถของตัวอ่อนในการรับรู้อนุภาคเฉื่อยของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเป็นอาหาร และจับกินอาหารมากขึ้นในช่วงเวลาหนึ่ง ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของตัวอ่อน การให้อาหารร่วมกันทั้งอาหารมีชีวิต และอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท จะช่วยให้การเจริญเติบโตและการอยู่รอดสูงกว่าการให้อาหารมีชีวิต หรืออาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเพียงอย่างเดียว การให้อาหารร่วมกันที่เหมาะสมจะช่วยในเรื่องโภชนาการของตัวอ่อน และการยอมรับอาหารเฉื่อยได้ง่ายขึ้น (Kolkovski, 2013) แม้ว่าลูกกุ้งมดแดงจะมีการยอมรับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท แต่พบว่าในชุดการทดลองที่ 2 หลังจากเปลี่ยนจากอาหารมีชีวิตเป็นอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทส่งผลให้การเจริญเติบโตด้านความยาวไม่ดี แม้ว่าช่วงแรกลูกกุ้งจะมีการเจริญเติบโตที่ดี แต่หลังจากที่หยุดให้อาร์ทีเมียการเจริญเติบโตของลูกกุ้งมดแดงก็ลดลง โดยพบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองลูกกุ้งมดแดงลงเกาะมีขนาดความยาวเพียง 8.90±2.31 มิลลิเมตรเท่านั้น อาจเป็นเพราะความสามารถในการย่อยอาหารของลูกกุ้งมดแดงยังมีการพัฒนาได้ไม่ดีเท่าที่ควร โดยปกติในช่วงแรกตัวอ่อนจะไม่สามารถย่อยอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทได้ โดยมีรายงานว่าพบแคปซูลที่ให้ไม่บุบสลายจำนวนมากภายในลำไส้ของตัวอ่อนสัตว์น้ำ เนื่องจากเปลือกของแคปซูลไม่แตกออก พบได้ในแคปซูลที่มีเอทิลเซลลูโลสหรือเปลือกที่มีโพลีเอไมด์เชื่อมอยู่ เนื่องจากโพลีเมอร์ดังกล่าวไม่ย่อยสลายทางชีวภาพอย่างรวดเร็วภายในร่างกาย (Thies, 1994) ในการศึกษาในสัตว์น้ำชนิดอื่นก็เช่นกัน ถึงแม้ว่าสัตว์น้ำจะมีการยอมรับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท แต่มักจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตได้ไม่ดี ส่วนหนึ่งอาจจะเป็นผลมาจากการที่สัตว์น้ำยังมีการพัฒนาในเรื่องของระบบย่อยอาหารที่ไม่ดีนัก

ในปัจจุบันจึงมีการตรวจสอบวิธีการย่อยอาหารในหลอดทดลอง เพื่อประเมินปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ย่อยอาหารของตัวอ่อนสัตว์น้ำและแหล่งโปรตีนที่อาจเกิดขึ้นจากการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสในการย่อยอาหาร โดยทำการประเมินความสามารถของเอนไซม์โปรติเอสของตัวอ่อนสัตว์น้ำในการย่อยอาหารที่แตกต่างกันออกไป และประเมินการไฮโดรไลซิส เพื่อศึกษาปริมาณของโปรตีนที่ปล่อยออกมาระหว่างย่อยอาหาร (Alarcon, Moyano, Diaz, Fernandez-Diaz and Yufera, 1999) ในส่วนของเอนไซม์ทริปซินทำหน้าที่ในการควบคุมการย่อยโปรตีน กระตุ้นไคโมทริปซิโนเจนให้อยู่ในรูปไคโมทริปซินที่สามารถทำงานได้ มีความสำคัญต่อพัฒนาการของสัตว์น้ำ และไคโมทริปซินมีผลต่อการเติบโตของสัตว์น้ำ โดยจะมีค่าสูงขึ้นเมื่อสัตว์น้ำเติบโตช้า ตรงกัน

ข้ามกับเอนไซม์ทริปซิน กิจกรรมของไคโมทริปซินจะสูงขึ้นเมื่อสัตว์น้ำถูกจำกัดการเจริญเติบโต โดยการอดอาหาร การให้อาหารแก่สัตว์น้ำที่มากขึ้นมีผลต่อกิจกรรมเฉพาะของทริปซินแต่ตรงกันข้ามกับไคโมทริปซิน โดยกิจกรรมเฉพาะของทริปซินและอัตราส่วนกิจกรรมของทริปซินต่อไคโมทริปซิน (T/C ratio) จะเพิ่มขึ้นเมื่อมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงขึ้น ในทางกลับกันกิจกรรมเฉพาะของไคโมทริปซินจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีอัตราการเจริญเติบโตที่ลดลง ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมเฉพาะของทริปซินและไคโมทริปซินสามารถสังเกตได้เมื่อการเจริญเติบโตลดลงในระหว่างที่มีการอดอาหาร ทริปซินเป็นโปรตีเอสที่สำคัญที่ละเอียดอ่อนภายใต้สภาวะที่เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตและมีผลกับพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม ในขณะที่ไคโมทริปซินมีบทบาทสำคัญเมื่อการเจริญเติบโตมีจำกัดหรือลดลง กิจกรรมเฉพาะของทริปซินและอัตราส่วนกิจกรรมของทริปซินต่อไคโมทริปซิน (T/C ratio) เป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญในกระบวนการย่อยอาหาร ซึ่งสัมพันธ์กับประสิทธิภาพการแปลงอาหาร และอัตราการเติบโตของสัตว์ โดยไม่คำนึงถึงการสะสมของโปรตีนหรือไขมันที่สูงขึ้น เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพที่เชื่อถือได้สำหรับการเปรียบเทียบคุณภาพอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และอัตราการเติบโตที่อาจเกิดขึ้น และสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้สำหรับการศึกษาการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำที่เลี้ยงในแหล่งกักกัน และในธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อไม่สามารถวัดอัตราการบริโภคอาหารได้ โดยค่าอัตราส่วน T/C สูงขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และลดลงในช่วงที่มีอัตราการเติบโตที่ช้าลง (Rungruangsak-Torrissen, Moss, Andresen, Berg and Waagbo, 2006) มีการคาดการว่าปัจจัยใด ๆ ที่ส่งผลต่อการทำงานของทริปซินควรส่งผลต่อกิจกรรมของไคโมทริปซินในลักษณะเดียวกัน เนื่องจากทั้งทริปซินและไคโมทริปซินเป็นโปรตีเอสที่ควบคุมการย่อยอาหาร กิจกรรมมีความเกี่ยวข้องกัน และมีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตโดยเฉพาะ (Le Moullac, Klein, Sellos and Van Wormhoudt , 1996) ซึ่งประสิทธิภาพในการย่อยอาหารเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการปรับการใช้ประโยชน์ของอาหารให้เหมาะสมเพื่อการเจริญเติบโตที่เหมาะสมของธรรมชาติของสัตว์น้ำแต่ละชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่ออาหารไม่อุดมสมบูรณ์ (Rungruangsak-Torrissen et al. 2006) การตรวจสอบกระบวนการย่อยอาหารในลูกกุ้งมดแดงเป็นส่วนหนึ่งในการประเมินความสามารถในการดูดซึมสารอาหารต่อชนิดอาหารที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ ซึ่งการศึกษาเอนไซม์ย่อยอาหารเป็นกระบวนการที่สำคัญในการทำความเข้าใจถึงกลไกในการย่อยอาหาร และให้ความรู้เกี่ยวกับความต้องการทางโภชนาการที่ดีของลูกกุ้ง โดยข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ และข้อมูลการเจริญเติบโต อาจเป็นส่วนหนึ่งในการกำหนดคุณภาพของอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงลูกกุ้งมดแดงได้ในอนาคต จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองของลูกกุ้งมดแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลองแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ที่สกัดจากตัวอย่างลูกกุ้งมดแดงสามารถย่อยสลายอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทได้ และกิจกรรมของเอนไซม์

โปรติเอส กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน และกิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซินของลูกกุ้งมดแดงที่ให้อาร์ทีเมียร่วมกับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทมีค่ากิจกรรมที่สูงกว่าการให้อาร์ทีเมียเป็นอาหารเพียงอย่างเดียว สอดคล้องกับ Kattakdad et al. (2018) ที่ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารของลูกกุ้ง *Caridina cantonensis* ช่วงอายุ 15 และ 60 วัน ในหลอดทดลอง พบว่าลูกกุ้งที่มีอายุมากจะมีประสิทธิภาพการย่อยอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทมากกว่าลูกกุ้งที่อายุน้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับการให้อาหารมีชีวิต แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ที่สกัดจากตัวลูกกุ้งทั้งตัวสามารถย่อยสลายอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทได้เป็นอย่างดี แต่แตกต่างกันในเรื่องของกิจกรรมเอนไซม์จากการรายงานพบว่าตัวอ่อนลูกกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเพียงอย่างเดียวโดยไม่ต้องเสริมอาหารสดแสดงกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดเมื่อเทียบกับอาร์ทีเมีย และแสดงให้เห็นถึงอัตราการเติบโตที่ดีขึ้นของลูกกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทเพียงอย่างเดียวตั้งแต่แรกฟักเป็นเวลา 60 วัน พิสูจน์ให้เห็นถึงความสามารถในการแทนที่อาหารมีชีวิตด้วยอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทในกุ้งชนิดนี้ได้เป็นอย่างดี ซึ่งจากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าลูกกุ้งมดแดงมีการยอมรับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท และสามารถนำมาใช้ร่วมกันในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อนได้

สรุปผลการวิจัย

1. จากการศึกษาการให้อาหารที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อนด้วยอาหารมีชีวิต และอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ตั้งแต่ลูกกุ้งแรกฟักจนถึงระยะที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างที่ระยะเวลา 84 วัน จากผลการศึกษาพบว่าสามารถประยุกต์ใช้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลทร่วมกับอาร์ทีเมียแรกฟักซึ่งเป็นอาหารมีชีวิตในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงวัยอ่อนได้ พบว่าลูกกุ้งมดแดงที่อนุบาลด้วยอาร์ทีเมียแรกฟัก ร่วมกับการให้อาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ลูกกุ้งมีอัตรารอด และการเจริญเติบโตด้านขนาด (Total Length) ที่ดี ในส่วนของระยะเวลาที่ใช้ในการลงเกาะของลูกกุ้งมดแดงมีความใกล้เคียงกับลูกกุ้งที่อนุบาลด้วยอาร์ทีเมียแรกฟักเพียงอย่างเดียวที่เวลา 64- 77 วัน แสดงให้เห็นถึงการยอมรับอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทในในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดง สามารถใช้เป็นข้อมูลเพื่อเป็นประโยชน์ในการทดลองในอนาคตต่อไป แต่ยังไม่สามารถใช้ทดแทนอาหารมีชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสังเกตได้ว่าการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทยังคงส่งผลต่อการเจริญเติบโต และอัตรารอดของลูกกุ้งมดแดงยังไม่ชัดเจน ดังนั้นจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อเพิ่มศักยภาพของอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงให้ดีขึ้น

2. การศึกษากิจกรรมเอนไซม์จากลูกกุ้งมดแดง พบว่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส เอนไซม์ทริปซิน และเอนไซม์ไคโมทริปซิน ในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงโดยที่ให้อาหารร่วมกัน

ระหว่างอาร์ทีเมียแรกฟัก และอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงกว่าการอนุบาลด้วยอาร์ทีเมียแรกฟักเพียงอย่างเดียว ซึ่งสอดคล้องกับอัตรารอด และการเจริญเติบโตของลูกกุ้งมดแดงที่สูงขึ้นเมื่ออนุบาลด้วยอาหารที่ให้ร่วมกัน เนื่องจากเอนไซม์เหล่านี้มีความสำคัญต่อพัฒนาการ และการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ และแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ที่สกัดได้จากตัวอย่างลูกกุ้งสามารถย่อยสลายอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทได้เป็นอย่างดี

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากลูกกุ้งมดแดงมีขนาดค่อนข้างเล็ก ในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์จากลูกกุ้งในขั้นตอนของการเตรียมสารสกัดจากเอนไซม์จำเป็นต้องใช้ตัวอย่างของลูกกุ้งทั้งตัวมาบดให้เป็นเนื้อเดียวกัน เพื่อใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมการย่อยโปรตีน ซึ่งอาจจะส่งผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ได้

2. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของระยะเวลาที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงด้วยอาหารไมโครเอนแคปซูลเลท ถึงแม้ว่าจากผลการศึกษาพบว่าลูกกุ้งมดแดงมีการยอมรับอาหาร แต่เนื่องจากพฤติกรรมการกินอาหาร และขนาดของลูกกุ้งมดแดงแรกฟักที่มีขนาดค่อนข้างเล็ก จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของระยะเวลา รวมถึงการดึงดูดการกินอาหารเพื่อให้ลูกกุ้งมดแดงสามารถเข้าหาอาหารและกินอาหารไมโครเอนแคปซูลเลทได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

3. เนื่องจากลูกกุ้งมดแดงแรกฟักมีขนาดค่อนข้างเล็กใน 3 วันแรก จึงควรให้โรติเฟอร์เป็นอาหารก่อน เพื่อให้ลูกกุ้งมดแดงตัวที่อ่อนแอสามารถจับกินอาหารได้

4. จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่ากุ้งมดแดงใช้ระยะเวลาในการพัฒนาค่อนข้างสั้น มีความสมบูรณ์เพศตั้งแต่อายุ 30 วันหลังจากลงเกาะ มีจำนวนลูกพันธุ์มาก อัตรารอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมีแนวโน้มสูง มีการเจริญเติบโตที่ดี เลี้ยงง่าย เป็นกุ้งที่พบการซื้อขายในตลาดค้าสัตว์น้ำสวยงาม ถือได้ว่าเป็นกุ้งที่มีศักยภาพต่อการส่งเสริมเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยง สามารถผลักดันให้เป็นสัตว์ทะเลสวยงามที่สร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งได้ และสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางเพาะขยายพันธุ์ เพื่อการประยุกต์ใช้เชิงพาณิชย์ได้ในอนาคต

5. การคำนวณต้นทุนในการนำไปใช้ประโยชน์ เนื่องจากงานวิจัยในครั้งนี้เป็นการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ มีการใช้สารเคมีในระดับการทดลอง จึงทำให้มีต้นทุนในการผลิต ถ้าหากในอนาคตมีการนำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ต่อยอดในระดับเชิงพาณิชย์ ในส่วนของต้นทุนในการผลิตระดับอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงอาจมีการเปลี่ยนแปลงได้

บรรณานุกรม

กัมปนาท หวลบุตตา และธนิกานต์ แสงนิ่ม. (มปป.). *การใช้ประยุกต์ใช้ไมโครแคปซูลในทางเภสัชกรรม*. เข้าถึงได้จาก http://ccpe.pharmacycouncil.org/showfile.php?file=238

กัตติกา แก้วขาว. (2555). *การพัฒนาการยับยั้งแบคทีเรียในชุดทหารด้วยไมโครเอนแคปซูเลชันจากน้ำมันหอมระเหยสมุนไพร*. วิทยานิพนธ์คหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี.

ชมพูนุช หลักดี. (2554). *กุ้งมดแดง (Rynchocinetes durbanensis)*. กรมประมง. 5 หน้า.

ชาญยุทธ สุดทองคง และวัฒนา วัฒนกุล. มปป. อาหารสำเร็จรูปสำหรับตัวอ่อนระยะ Megalopa ของปูแสม *Episesarma singaporense*. *นเรศวรวิจัย ครั้งที่ 13: วิจัยและนวัตกรรมขับเคลื่อน เศรษฐกิจและสังคม*, 421-428.

ธีระวัฒน์ บุญโสม และเอกชัย ดำเกลี้ยง. (2561). การทำไมโครเอนแคปซูเลชันน้ำมันหอมระเหยโดยการพ่นแห้ง: ผลของส่วนประกอบของสารห่อหุ้มและสภาวะการเตรียม. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 12(2), 48-62.

บัณฑิต พรหมรักษา, จุรีรัตน์ ดาดวง, เตือนจิต คำพิทักษ์, ประณิธิ หงสประภาส และพัชรี บุญศิริ. (2557). เทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันและบทบาททางการแพทย์. *วารสารศรีนครินทร์เวชสาร*, 29(1), 90-97.

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2536). อาหารปลา. กรุงเทพฯ:โอ เอส พริ้นติ้ง เฮาส์.

รัชฎาพร ใจมั่น และณัฐพงศ์ กันหา. (2561). ผลของสารห่อหุ้ม พีเอช และอัตราส่วนสารแกนต่อสารห่อหุ้มที่มีการผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มด้วยวิธีคอมเพล็กซ์โคอะเซอร์เวชัน เพื่อประยุกต์ใช้เคลือบเฉพาะจุดบนบรรจุภัณฑ์อาหาร. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา* ปีที่ 23(1), 480-496.

ศิริวรรณ ชูศรี วิไลวรรณ พวงสันเทียะ และจารุนันท์ ประทุมยศ. (2563). พัฒนาการและการอนุบาลลูกกุ้งมดแดงเบื้องต้น. รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากกองทุนวิจัย และพัฒนา มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปี พ.ศ. 2562. (100 หน้า)

สุรชาต ฉวีภักดิ์, ธิดาพร ฉวีภักดิ์ และบุญยี่ หมื่นไชสง. (2558). ผลของอาร์ทีเมียต่อผลผลิต อัตราการรอดตาย และเวลาการพัฒนาเข้าระยะโพสท์ลาร์วาของกั้งตั๊กแตน (*Harpiosquilla raphidea* Fabricius, 1798). ใน *การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 53 ระหว่างวันที่ 3-6 กุมภาพันธ์ 2558*. (หน้า 1108-1115). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บรรณานุกรม (ต่อ)

สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. (2556). *คู่มือความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตทางทะเลและชายฝั่งเกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี*. เอกสารเผยแพร่สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง ฉบับที่ 62. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพมหานคร. 248 หน้า.

เสาวภา สวัสดิ์พีระ ณัฐวุฒิ เหลืองอ่อน วิรชา เจริญดี วรเทพ มุธุวรรณ อภิศักดิ์ เฮ่งพก และปรารถนา เข็มทอง. (2556). ธุรกิจการค้าสัตว์ทะเลสวยงามในกลุ่มกุ้ง กั้ง ปู ของประเทศไทย. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์เสนอสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

เสาวลักษณ์ เอี่ยมไผ่. (2548). *ผลของสารสกัดโพรเจสเทอโรนและ 17 แอลฟา-ไฮดรอกซีโพรเจสเทอโรนจากแม่เพรียงทราย Perinereis sp. ต่อการเจริญของเซลล์ไข่กุ้งกุลาดำ Penaeus monodon*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อรพินท์ จินตสถาพร. 2553. *วิชาอาหารสัตว์น้ำ*. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกชัย ดวงใจ. (2548). การสกัดฮอร์โมนโพรสแกลนดินจากแม่เพรียงทรายและผลของสารสกัดฮอร์โมนต่อการพัฒนาของไข่แม่กุ้งกุลาดำ. ใน *การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 44 ระหว่างวันที่ 30 มกราคม-2 กุมภาพันธ์ 2549*. (หน้า 77-84). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกลักษณ์ ทวีโรจนกุล. (2552). Microencapsulation: เทคโนโลยีจิ๋ว แต่แจ๋ว. *Technology Promotion Mag*, 36(20), 39-42.

Abdu, U.,Takac, P., Laufer, H. and Sagi, A. (1998). Effect of methyl farnesoate on late larval development and metamorphosis in the prawn *Macrobrachium rosenbergii* (Decapoda, Palaemonidae): A juvenoid-like effect? Biol. Bull, 195, 112-119.

Agnihotri, N., Mishra, R., Goda, C. and Arora, M. (2012). Microencapsulation – A Novel Approach in Drug Delivery: A Review. *Journal of Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 1-20.

Alarcon F.J., Moyano F.J., Diaz M., Fernandez-Diaz C. and Yufera M. (1999). Optimization of the protein fraction of microcapsules used in feeding of marine fish larvae using in vitro digestibility techniques. *Aquaculture Nutrition*, 5,107-113.

บรรณานุกรม (ต่อ)

AOAC. (1990). *Official methods of analysis*. USA: Association of Official Analytical Chemist.

Ballazs, G. and Ross, F. (1976). Effect of protein source and level on growth and performance of captive freshwater pawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of Aquaculture*, 7, 229-313.

Baranauskaite, J., Dalia, M.K. and Jurga, B. (2019). Impact of Gelatin Supplemented with Gum Arabic, Tween 20, and β-Cyclodextrin on the Microencapsulation of Turkish Oregano Extract. *Journal of Molecules*, 24(176), 1-16

Barrow, C.J., Nolan, C. and Holub, B.J. (2009). Bioequivalence of encapsulated and microencapsulated fish-oil supplementation. *Journal of Function Foods,* 1, 38-43.

Baskerville-Bridges, B. and Kling, L.J. (2000). Early weaning of Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae onto a microparticulate diet. *Aquaculture Journal*, 189, 109–117.

Bezerra, R.S., Lins, E.J.F., Alencar, R.B., Paiva, P.M.G., Chaves, M.E.C., Luana, C.B.B. and Carvalho Jr., L.B. (2005). Alkaline proteinase from intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Proc. Biochem. 40, 1829–1834.

Calado, R. (2008). *Marine ornamental shrimp: biology, aquaculture and conservation*. Oxford: Wiley-Blackwell, 280 pp.

Canavate, J.P. and Fernandez-Diaz, C. (1999). Influence of co-feeding larvae with live and inert diets on weaning the sole Solea senegalensis onto commercial dry feeds. *Aquaculture*, 174, 255–263.

Casanova, F., and Santos, L. (2012). Encapsulation of cosmetic active ingredients for topical application--a review. *Journal of Microencapsulation*, 33(1), 1-17.

Chace F.A. (1997). *The Caridean Shrimps (Crustacea: Decapoda) of theAlbatross Philippine Expedition, 1907–1910, Part 7: Families Atyidae, Eugonatonotidae, Rhynchocinetidae, Bathypalaemonellidae, Processidae and Hippolytidae*. Washington, DC: Smithsonian Institution Press, 106 pp.

Chein, Y.W. and Novir, M. (1996). Mucosal adhesive device for long acting delivery of pharmaceutical combinations in oral cavity. *US patent NO.5578315*, 2, 52-55.

บรรณานุกรม (ต่อ)

Clarissa, L.M. (2003). Larviculture of marine species in Southeast Asia: current research and industry prospects. *Aquaculture Journal*, 227, 293–304.

Conceição, L.E.C., Yúfera, M., Makridis, P., Morais, S. and Dinis, M.T., (2010). Live feeds for early stages of fish rearing. *Aquac. Res.,* 41, 613–640.

Conklin, D., D'Abramo, L.R., Brodner, C.E. and Baum, N.A. (1980). A successful purified diet for the culture of juvenile lobsters: The effect of lecithin. *Journal of Aquaculture*, 21, 243–249.

Cox, E.S. and Pankhurst, P.M., (2000). Feeding behaviour of greenback flounder larvae, *Rhombosolea tapirina* (Günther) with differing exposure histories to live prey. *Aquaculture*, 183, 285–297.

Croz, D.L., Wong, L., Justines, G. and Gupta, M. (1988). Prostaglandins and related compounds from the polychaete worm Americonuphis reesei Fauchald as possible inducer of gonad maturation in Penaeid shrimps. *Rev. Biol. Trop.*, 36(1), 331-332.

D'Abramo, L.R., 1998. Nutritional requirements of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*: comparisons with species of penaeid shrimp. *Fish. Sci.*, 6, 153–163.

Dimes, L.E. and Haard, N.F. (1994). Estimation of protein digestibility: I. Development of an in vitro method for estimating protein digestibility in salmonids (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 108A, 349–362.

Fernandez-Diaz, C., Pascual, E. and Yúfera, M., (1994). Feeding behaviour and prey size selection of gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae fed on inert and live food. *Mar. Biol.*, 118, 323–328.

Ferna´ndez-D´ıaz, C. and Yu´fera, M. (1997). Detecting growth in gilthead seabream, *Sparus aurata* L., larvae fed microcapsules. *Aquaculture*, 153, 93–102.

Fingerman, M. (1997). Crustacean endocrinology: reprospective, and introspective analysis. *Physiological Zoology*, 70(3), 257-269.

Gimenez, A.V.F., Fernandez, I., Preciado, R.M., Oliva, M., Tova, D. and Nolasco, H. (1999). The activity of digestive enzyme during the molting stage of the arched swimming *Callinectes arcautus*, 1863. (Crustacea:decapoda: portunidae). *Bull. Mar. Sci.*, 65, 1-9.

บรรณานุกรม (ต่อ)

Goud, K. and Park, H.J., 2005. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. *Drying Technology*, 23, 1361–1394.

Govoni, J.J., Boehlert, G.W. and Watanabej, Y. (1986). The physiology of digestion in fish larvae. *Environ. Biol. Fish,* 16, 59–77.

Guo, J.H. (1994). Bioadhesive polymer buccal patches for buprenorphine controlled delivery: formulation in vitro adhesive and release properties. *Drug Dev.Ind.pharm*, 20, 315-325.

Hauville, M.R., Zambonino-Infante, J.L., Bell, G., Migaud and Main, K.L. (2013). Impacts of three different microdiets on Florida Pompano, *Trachinotus carolinus*, weaning success, growth, fatty acid incorporation and enzyme activity. *Journal of Aqualture*, 422-423, 268-276.

Holme, M.H., Zeng C. and Southgate, C. (2009). A review of progress toward development of a formulated microbound diet for mud crab, *Scylla serrata*, larvae and their nutritional requirements. *Journal of Aquaculture*, 286, 164-175.

Hoseinifar S.H. and Zare P. (2013). The effects of different level of live food replacement with microdiet on growth factors, survival and resistance to salinity stress of Indian white shrimp post-larvae (*Fenneropenaeus indicus*). *International Journal of Aquatic Biology*, 1(5), 209-214.

Jabeen, M., Begum, S., Siddique, A. and Fatima, S.S. (2016). Microencapsulation: A potential and promising approach in drug delivery system. *Journal of Inventions in Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 11-18.

Jackson, L.S. and Lee, K. (1991). Microencapsulation and the food industry. *Lebennsmittel-Wissenschaft Techonologie*, 24(4), 289-297.

Jain, N.K. (2002). *Controlled and Novel Drug Delivery*, *4th edition*. New Delhi, India: CBS Publisher and Distributor.

บรรณานุกรม (ต่อ)

Karthik, R., Thamizharasan, K., Dharmlingam, S., Kadiravan, R. C. and Ashwitha, V. (2016). Biochemical profile of shrimp larvae fed with five different micro algae and enriched *Artemia salina* under laboratory conditions. *Journal of Fisheries and Aquatic studies*, 4(4), 376-379.

Kattakdad S., Jintasataporn O., Worawattanamateekul W. and Chumkam S. (2018). Successful nursing of *Caridina cantonensis* larvae with Ca-alginate microencapsulated diet in the first feeding. *International Journal of Aquatic Science*, 9(2),66-76.

Khawla, A., Abu, I., Lucila, G.C. and Robert, L.D. (1996). Selection of better methed for the preparation of microspheres by applying hierarchy process. *J. Pharm Sci*, 85, 144-149.

Kolkovski, S. (2013). Microdiets as alternatives to live feeds for fish larvae in aquaculture: improving the efficiency of feed particle utilization. *Journal of Advances in aquaculture hatchery technology*, 203-222.

Kolkovski, S., Koven, W. and Tandler, A. (1997). The mode of action of Artemia in enhancing utilization of microdiet by gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture*, 155, 193–205.

Kovalenko, E.E., D'Abramo, R.D., Ohs, C.L. and Buddington, R.K. (2002). A successful microbound diet for the larval culture of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of Aquaculture*, 210,385-395.

Koven,W., Kolkovski, S., Hadas, E., Gamsiz, K., Tandler, a. (2001). Advances in the development of microdiets for gilthead seabream, *Sparus aurata*: a review. *Aquaculture*, 194, 107–121.

Kumlu, M., (1999). Feeding and digestion in larval decapod crustaceans. Trop. *Journal of Biology*, 23, 215–229.

Kvåle, A., Yúfera, M., Nygård, E., Aursland, K., Harboe, T. and Hamre, K. (2006). Leaching properties of three different micropaticulate diets and preference of the diets in cod (*Gadus morhua* L.) larvae. *Aquaculture*, 251, 402–415.

Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.

บรรณานุกรม (ต่อ)

Langdon, C. (2003). Microparticle types for delivering nutrients to marine fish larvae. *Aquaculture*, 227, 259–275.

Lavens, P. and Sorgeloos, P. (2000). The history, present status and prospects of the availability of Artemia cysts for aquaculture. *Aquaculture*, 181, 397–403.

Lee, B.Y., Ngan, K.N.G. and Peter, K.L. (2015). The taxonomy of five species of Episesarma De Man, 1895 in Singapore (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Sesarmidae). *Journal of Raffles Bulletin of Zoology*, 31, 199-215.

Le Moullac, G., Klein, B., Sellos, D. and Van Wormhoudt, A. (1996). Adaptation of trypsin, chymotrypsin and a-amylase to casein level and protein source in *Penaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 208,107–125.

López-Elías, J.A., Voltolina, D., Cordero-Esquivel, B. and Nieves-Soto, M. (2003). Producción comercial de larvas decamarón y microalgas en cuatro estados de la República. Mexicana. *Journal of Biotécnia*, 5(1), 42-51.

Manik, R. (1976). Preliminary studies on the effect of different pelletized formulated feeds on the growth of *Macrobrachium rosenbergii*. Bull. *Shrimp-Culture research Centre*, 187-193.

Millikin, M.R., Fortner, A.R., Fair, P.H. and Sick, L.V. (1980). Influence of dietary protein concentration on growth, feed conversion and general metabolism of juvenile praw (*Macrobrachium rosenbergii*). *Proceeding of the Word Mariculture Society*, 11, 385-391.

Moazzam, M., Ahmed, S. and Kazmi, Q.B. (2020). Occurrence of Caridian shrimp *Rhynchocinetes durbanensis* Gordon, 1936 (Crustacea: Decapoda: Caridea) along Pakistan coast. *Biol.Biotech*, 17(4), 735-755.

Nesterenko, A., Alric, I., Silvestre, F. and Durrieu, V. (2013). Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. *Journal of Industrial Crops and Products,* 42, 469-479.

บรรณานุกรม (ต่อ)

Pérez-Morales, A., Band-Schmidt, C.J. and Martinez-Diaz, S.F. (2016). Changes in mortality rates during the larval stage of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on the basis of algal (*Chaetoceros calcitrans* or *Tetraselmis suecica*) food density. *Journal of Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 3(9), 415-420.

Prakash S. and Ajithkumar T.T. (2013) On a record of *Rhynchocinetes durbanensis* Gordon, 1936 (Decapoda: Caridea: Rhynchocinetidae) in Gulf of Mannar, Tamilnadu, India. *Journal of Bombay Natural History Society*, 110, 163–165.

Prakash, S., Ajithkumar, T.T., Bauer, R., Thiel, M. and Subramoniam, T. (2015). Reproductive morphology and mating behaviour in the hingebeak shrimp *Rhynchocinetes durbanensis* Gordon, 1936 (Decapoda: Caridea: Rhynchocinetidae) in India. *Marine Biological Association of the United Kingdom*, 1-10.

Raheem, P.K. (n.d.). *Successful brood stock development and larval rearing of marine ornamental camel shrimp*. Retrieved from https://www.academia.edu/31121750/Successful_brood_stock_development_and_larval_rearing_of_marine_ornamental_camel_shrimp

Ramadhani, D. E., Widanarni, W. and Sukenda, S. (2019). Microencapsulation of probiotics and its applications with prebiotic in Pacific white shrimp larvae through Artemia sp. *Journal of Akuakultur Indonesia*, 18(2), 130-140.

Rathore, S.S., Yusufzai, S.I., Katira, N.N. and Jaiswal, K. (2016). Fish larval Nutrition: A Review on New Developmenus. *Journal of The Internationnal of Engineering and Science* (IJES), 5(9), 40-47.

Romo-Hualde, A., Yetano-Cunchillos, A.I., Gonzclez-Ferrero, C., Saiz-Abajo, M.J, and Gonzalez-Navarro, C.J. (2012). Supercritical fluid extraction and microencapsulation of bioactive compounds from red pepper (*Capsicum annum L.*). by-products. *Food Chem*., 133, 1045–9.

บรรณานุกรม (ต่อ)

Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Pascual, C., Taboada, G., Arena, L. and Wormhoudt, A.V. 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.

Rosenlund, G., Stoss, J. and Talhot, C. (1997). Co-feeding marine fish larvae with inert and live diets. *Aquaculture*, 155, 183–191.

Rungrungsak, K. and Utne, F. (1981). Effect of different acidified wet feeds on protease activities in the digestive tract and on growth rate of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquacultyre*, 22, 67-79

Rungrungsak- Torrissen, K. and Sundby, A. (2000). Protease activities, plasma free amino acids and insulin at different ages of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) with genetically different trypsin isozymes. *Fish Physiology and Biochemistry*, 22(4), 337-347.

Rungruangsak-Torrissen, K., Moss, R., Andresen, L.H., Berg A. and Waagbo, R. (2006). Different expressions of trypsin and chymotrypsin in relation to growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.*). Fish Physiology and Biochemistry*, 32,7-23.

Sailaja, K. A. and Jyothika, M. (2015). A review on microcapsules. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* 4(2), 2319-3891.

Sargent, J.R., Mcevoy, L.A. and Bell, G. (1997). Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture*, 155, 117–127.

Shekhar, K. and Naga, M.M. (2010). A review on microencapsulation. International *Journal of Pharmaceutical Sciences Review & Research*, 5(2), 58-62.

Spolaore, P., Joannis-Cassan, J., Duran, E. and Isambert, A. (2006). Commercial applications of microalgae. *Journal of Scicence direct*, 101(2), 87-96.

Sukardi P., Hana H., Prayogo N.A., Sulistyo I., Soedibya P.H.T., Harisam T. and Winanto T. (2018). A Lipid-walled microcapsule diet as co-feed for early feeding the *Osphronemus gourami* (Lacepede) larvae. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 40(e38335),1-8.

บรรณานุกรม (ต่อ)

Thies, A. (1994). How-to-make Microcapsules: Lecture and Laboratory Manual. Thies Technology, St. Louis, MO, 247 pp.

Tomazelli Junior, O., Kuhn, F., Mendonca Padilha, P.J., Nunes Nesi, C., Mestres, M., Del Magro, J. and De Lamo Castellvi, V. (2017). Effect of microencapsulated thyme essential oil on white spot virus-infected *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Aquaculture International*, 26, 1459-1468.

Torrissen, K.R., Lien, E. and Espe, M. (1994). Differences in digestion and absorption of dietary protein in Atlantic salmon (*Salno salar*) with genetically different trypsin isozymes. *Journal of fish biology*, 45, 1087-1104.

Umer, H.N., Nigam, H. and Tamboli, A.M. (2011). Microencapsulation: Process, Techniques and Applications. *Journal of International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2(2), 474-481.

Walford, L., Lim, T.M. and Lam, T.J. (1991). Replacing live foods with microencapsulated diets in the rearing of seabass *Lates calcarifer* larvae: do the larvae ingest and digest protein-membrane microcapsules? *Aquaculture*, 92, 225-235.

Wang, Y., Puwang, L., Thao, T.D.T., Juan, Z. and Lingxue, K. (2016). Manufacturing Techniques and Surface Engineering of Polymer Based Nanoparticles for Targeted Drug Delivery to Cancer. *Journal of nanomaterials*, 6(26), 1-18.

Willer, D.F. and Algridge, D.C. (2019). Microencapsulated diets to improve bivalve shellfish aquaculture for global food security. *Journal of Global Food Security*, 23, 64-73.

Wittenrich, L.M. (2007). The Complets Illustrated Breeder's Guide to Marine Aquarium Fishes. T.F.H. Publications. 304.

Wouters, R. and Fegan, D.F. (2004). Larval shrimp nutrition, a review. *Journal of Global Aquaculture Advocate*, 1-8.

Xie Z., Wang F., Liu H., Guo S., Zhu A. and Niu H. (2010). Gelatin-walled microencapsulated diet for larval shrimp (*Penaeus japonicus* Bate) manufactured using the fluidized bed coating process. *Aquaculture Research*, 42, 65-73.

บรรณานุกรม (ต่อ)

Xie, Z., Wang, F., Lou, B., Liu, H. and Guo, S. (2013). Retention efficiency and release of nutrients in the digestive tract of larval shrimp (*Penaeus japonicas* Bate) using different microencapsulated diets. *Journal of Aquacult Int*, 21, 667-678.

Yuferra, M., Pascual, E. and Fernandez-DiaZ, C. (1999). A highly efficient microencapsulated food for rearing early larvae of marine fish. *Journal of Aquaculture*, 177, 249-256.

Yúfera, M., Fernández-Diaz, C. and Pascual, E. (2005). Food microparticles for larval fish prepared by internal gelation. *Journal of Aquaculture*, 248, 253–262.

BURAPHA UNIVERSITY

บรรณานุกรม

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

1. การวิเคราะห์แอมโมเนีย (Ammonia)

1.1 การเตรียมสาร

สารละลาย Phenol solution

- Phenol	20.0	กรัม
- ethyl alcohol (95%)	200	มิลลิลิตร

สารละลาย Sodium nitroprusside solution

- Sodium nitroprusside	1.0	กรัม
- น้ำกลั่น	200	มิลลิลิตร

สารละลาย Alkaline reagent

-Sodium citrate		100
กรัม		
-Sodium hydroxide	5	กรัม
-น้ำกลั่น	500	มิลลิลิตร

สารละลาย Sodium hypochlorite solution

-Sodium hypochlorite

1.2 วิธีวิเคราะห์

1.2.1 เตรียมน้ำตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

1.2.2 ใส่ Phenol solution 0.4 มิลลิลิตร กับ Sodium nitroprusside solution 0.4 มิลลิลิตร ลงในน้ำตัวอย่าง

1.2.3 ใส่สารละลายผสม Alkaline reagent กับ Sodium hypochlorite solution (ผสมให้เข้ากันก่อนในอัตราส่วน 4:1 เติมในปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในน้ำตัวอย่าง

1.2.4 ปิดฝาและเขย่า ทิ้งไว้ 1-2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer Hach Dr 4100

1.2.5 แปลผลที่ได้จากเครื่องให้เป็นหน่วย ppm

2. การวิเคราะห์ไนไตร (Nitrite)

2.1 การเตรียมสาร

สารละลาย Sulphanilamide solution

-Sulphanilamide	5	กรัม
-Hydrochloric acid	50	มิลลิลิตร
-น้ำกลั่น	50	มิลลิลิตร

สารละลาย N - (1-Naphthyl) - Ethylenediamine dihydrochloride solution

-N-(1-Naphthyl) - Ethylenediamine dihydrochloride Iodine	0.50	กรัม
-น้ำกลั่น	500	มิลลิลิตร

2.2 วิธีวิเคราะห์

2.2.1 เตรียมน้ำตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

2.2.2 ใส่ Sulphanilamide solution 0.2 มิลลิลิตร ลงในน้ำตัวอย่าง

2.2.3 ใส่ N - (1-Naphthyl) - Ethylenediamine dihydrochloride solution 0.2 มิลลิลิตร ลงในน้ำตัวอย่าง

2.3.4 ปิดฝาและเขย่า ทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer Hach Dr 4100

2.3.5 แปลผลที่ได้จากเครื่องให้เป็นหน่วย ppm

3. ความเป็นด่างของน้ำ (Alkalinity)

3.1 การเตรียมสาร

สารเมทีลออเรนจ์

-เมทีลออเรนจ์	0.05	กรัม
-น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

สารละลายมาตรฐาน Sodium carbonate 0.02 N

- Na_2CO_3 (อบที่ 145 ^{0}C นาน 4 ชั่วโมง)	1.0600	กรัม
-น้ำกลั่นต้ม (เพื่อกำจัด CO_2 แล้วรอให้เย็น)	1,000	มิลลิลิตร

สารละลายมาตรฐาน Sulfuric acid 0.02 N

- conc.H_2SO_4	3	มิลลิลิตร
- น้ำกลั่นต้ม (เพื่อกำจัด CO_2 แล้วรอให้เย็น)	1,000	มิลลิลิตร

หมายเหตุ เมื่อต้องการใช้สารละลายมาตรฐาน Sulfuric acid 0.02 N ดูดมา 350 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร)

4.2 การเทียบสารละลายมาตรฐาน

4.2.1 ดูดสารละลายมาตรฐาน Na_2CO_3 มา 10 มิลลิลิตร และ น้ำกลั่นต้ม 90 มิลลิลิตร ใส่ flask ขนาด 100 มิลลิลิตร

4.2.2 หยดเมทิลออเรนจ์ 5 หยด

4.2.3 นำ Na_2CO_3 0.02 N มาไทเทรต โดยตัวอย่างจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีส้ม

4.2.4 จดบันทึกปริมาตรกรด H_2SO_4 ที่ใช้ในการไทเทรต

4.2.5 คำนวณหาความเข้มข้นของกรด H_2SO_4

4.3 วิธีวิเคราะห์

4.3.1 เตรียมน้ำตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร

4.3.2 หยดเมทิลออเรนจ์ 5 หยด ลงในน้ำตัวอย่าง จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

4.3.3 ไทเทรต โดยใช้กรด H_2SO_4 0.02 N เป็นตัวไทรเทรต ใส่ลงในบิวเรต

4.3.4 ทำการไทเทรตน้ำตัวอย่างจนน้ำตัวอย่างเปลี่ยนจากสีเหลืองไปเป็นสีส้ม

4.3.5 จดบันทึกปริมาตรน้ำที่ใช้ไป และนำไปคูณ 20 จะได้ค่าสภาพด่างของน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

ภาคผนวก ข

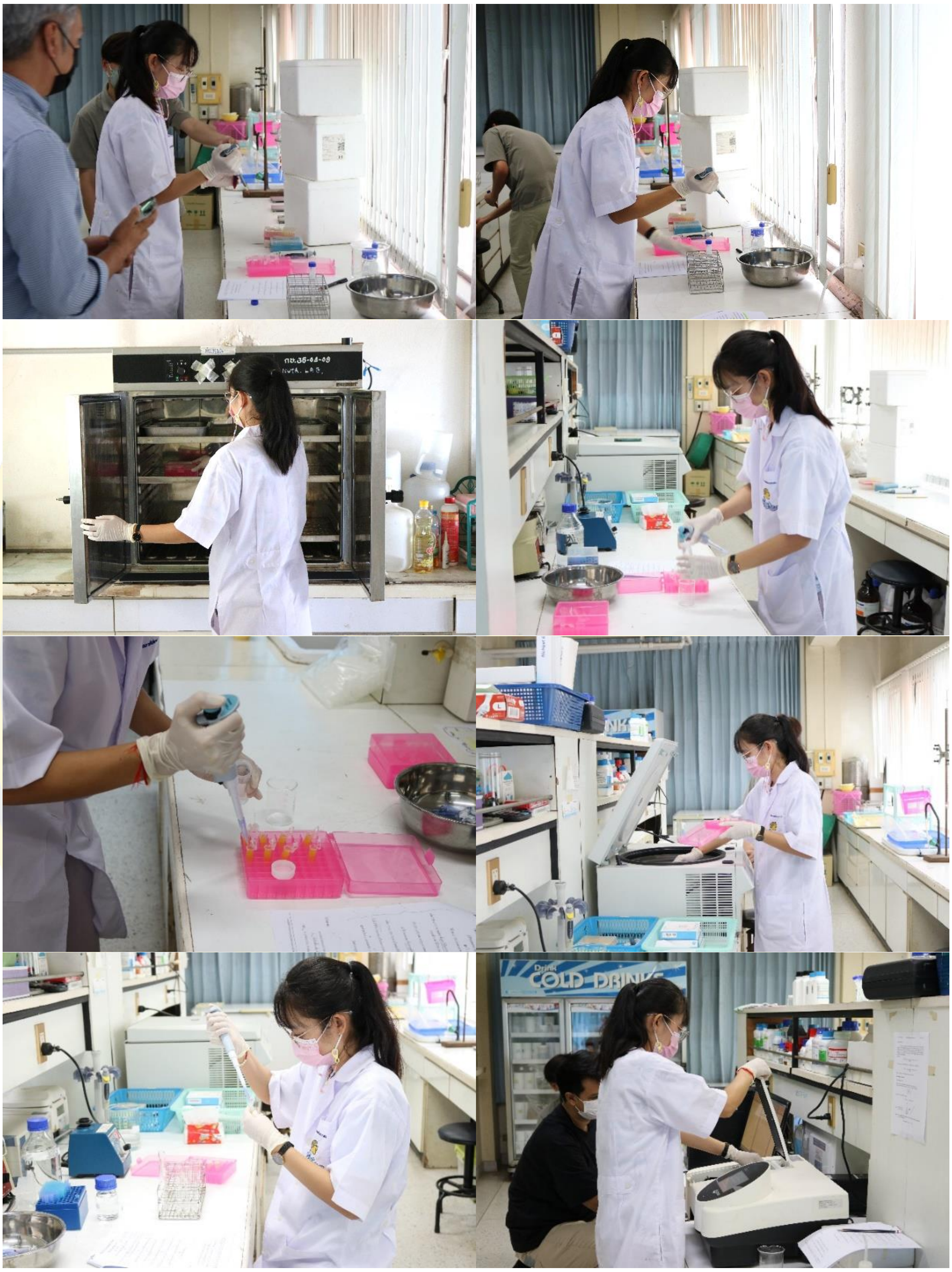
การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์

ภาพที่ 48 ทำการเก็บตัวอย่างสัตว์ทดลอง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาค่าต่าง ๆ

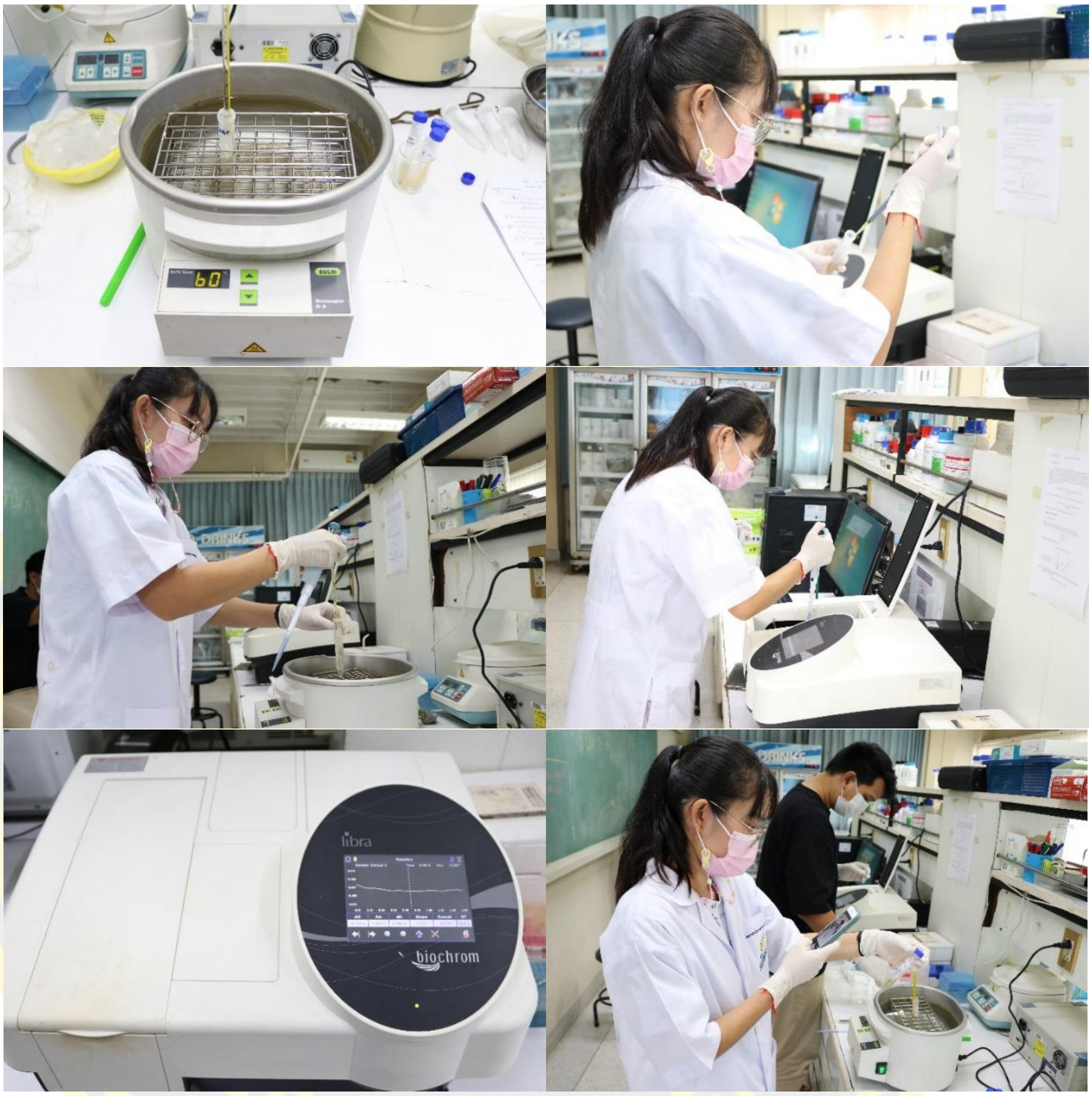
ภาพที่ 49 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง ด้วยวิธี in vitro digestibility

ภาพที่ 50 วิเคราะห์หาการสูญเสียปริมาณโปรตีน (Soluble Protein) ด้วยวิธี Lowry method

ภาพที่ 51 การเตรียมสารสกัด เพื่อใช้วิเคราะห์หากิจกรรมเอนไซม์จากลูกกุ้งมดแดง



ภาพที่ 52 วิเคราะห์กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรติเอส



ภาพที่ 53 วิเคราะห์กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ ทริปซิน และไคโมทริปซิน

ประวัติย่อของผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวศิริวรรณ ชูศรี	
วัน เดือน ปี เกิด	6 มีนาคม พ.ศ. 2529	
สถานที่เกิด	จังหวัดนครศรีธรรมราช	
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 94/170 ซอยเชิงทะเล 16 ถนนศรีสุนทร ตำบลเชิงทะเล อำเภอถลาง จังหวัดภูเก็ต	
ตำแหน่งและประวัติการทำงาน	พ.ศ.2556 - ปัจจุบัน	นักวิทยาศาสตร์ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2552	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
	พ.ศ. 2565	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วาริชศาสตร์) มหาวิทยาลัยบูรพา