

ผลของสารสกัดหยาบจากต้นเขียดต่อระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวที่ได้รับไวรัส
ก่อโรคจุดขาว

Effect of *Cinnamomum iners* Extraction on Immune System of White
Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Infected with White Spot
Syndrome Virus



T104391



เลขหมู่.....

เลขทะเบียน 104391

วัน,เดือน,ปี - 2 พ.ค. 2552



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Effect of *Cinnamomum inners* Extraction on Immune System of White
Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Infected with White Spot Syndrome
Virus**



**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTAIL OF THE FULFILLMENT
OF THE REQUIRMENT FOR DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN MICROBIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2008**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการเรื่อง ผลของสารสกัดหยาบจากต้นชะเอมต่อระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวที่ได้รับไวรัสก่อโรคจุกขาว

Effect of *Cinnamomum iners* Extraction on Immune System of White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Infected with White Spot Syndrome Virus

นักศึกษา นางสาวชุตินันท์ ศติมณฑล นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 48050537
นางสาววรินดา เหล่าจุม นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 48050564
นางสาววันวิสา พิลึก นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 48050565

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา 2551

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.กนกพร สมพรไพลิน

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร.ณรงค์ศักดิ์ พ่วงลาภ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2551

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล	สุพัตรา โพธิ์เยี่ยม
กรรมการ ดร.ณรงค์ศักดิ์ พ่วงลาภ	ดร.ณรงค์ศักดิ์ พ่วงลาภ
กรรมการ ผศ.ดร.กนกพร สมพรไพลิน	กนกพร สมพรไพลิน

(ผศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เยี่ยม)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการเรื่อง	ผลของสารสกัดหยาบจากต้นเขียดต่อระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวที่ได้รับไวรัสก่อโรคจุดขาว	
นักศึกษา	นางสาวชุตินันท์ ศศิณทล	นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 48050537
	นางสาววรินดา เหล่าจุม	นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 48050564
	นางสาววันวิสา พิธิ์	นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 48050565
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์	
สาขา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม	
ปีการศึกษา	2551	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.กนกพร สมพรไพลิน	
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร.ณรงค์ศักดิ์ พ่วงลาภ	

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากเปลือกเขียด (*Cinnamomum iners*) ต่อระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งขาว (*L. vannamei*) ที่ได้รับไวรัสก่อโรคจุดขาว โดยใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกเขียดในตัวทำละลายเอธานอลในช่วงความเข้มข้น 0 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เคลือบลงบนอาหารกุ้งสำเร็จรูป จากนั้นนำอาหารที่ความเข้มข้นต่างๆ เลี้ยงกุ้ง ที่ 7 และ 14 วัน ทำการตรวจสอบทางสรีรวิทยาและการเปลี่ยนแปลงระบบภูมิคุ้มกัน โดยเทียบกับชุดควบคุม จากผลการทดลอง พบว่าเซลล์เม็ดเลือดเซมิกรานูลาร์ และเซลล์เม็ดเลือดครานูลาร์ในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดเขียดที่ความเข้มข้น 0.05 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพิ่มขึ้นที่ 14 วัน และที่ 7 วัน หลังจากได้รับอาหารเสริมสารสกัดเขียดกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสเพิ่มขึ้นที่ 14 วัน และไม่แตกต่างกันทางสถิติ หลังจากได้รับเชื้อไวรัสก่อโรคจุดขาวเป็นเวลา 4 วัน พบว่า กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดเขียดที่ความเข้มข้น 0.5 ถึง 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีอัตราการรอดเพิ่มขึ้น

คำสำคัญ : เขียด(*Cinnamomum iners*), กุ้งขาว(*Litopenaeus vannamei*), สารสกัด, ภูมิคุ้มกัน

Special Project Title	Effect of <i>Cinnamomum iners</i> Extraction on Immune System of White Shrimp (<i>Litopenaeus vannamei</i>) Infected with White Spot Syndrome Virus
Name	Miss Chutinun Sasimonthon Miss Warinda Laojum Miss Wanvisa Piluek
Department	Applied Biology
Program	Industrial Microbiology
Academic year	2008
Special Project advisor	Assist. Prof. Dr. Kanokporn Sompornpailin
Special Project co – advisor	Dr. Narongsak puanglap

Abstract

To investigate the effects of Cinnamon bark extraction on immune system of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against White Spot Syndrome Virus (WSSV), ethanol extraction of Cinnamon bark in the rang of 0-50 mg^l⁻¹ was incorporated with commercially available artificial pellet feeds. These pellets with different concentration of cinnamon were fed to shrimps. At 7 and 14 days, physiological and immune systematic changes were determined in comparing with control. The results demonstrate that semi-granular and granular of shrimp bloods fed with 0.05-5 mg^l⁻¹ Cinnamon extraction were raised within 14 days. At 7 days after treated with Cinnamon supplemented pellet, phenoloxidase activity was decrease in comparing with control while this enzyme was increase within 14 days with no statistic significance. After 4 days treated with WSSV, shrimps fed with pellets containing cinnamon have better survival rate especially in concentration rang 0.5-5 mg^l⁻¹

Key word : *Cinnamomum iners*, White shrimp (*Litopenaeus vannamei*), Crude extract, Immune.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้ากราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกพร สมพรไพฑิณ และดร.ณรงค์ศักดิ์ พ่วงลาภ อาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำปรึกษา ให้การอบรมสั่งสอน เสนอแนะแนวทางในการทำ โครงการพิเศษตลอดจนตรวจสอบและแก้ไขโครงการพิเศษเล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ขอกราบ ขอบพระคุณประธานกรรมการ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมในโครงการ พิเศษ ตลอดจนตรวจทานแก้ไขโครงการพิเศษเล่มนี้ให้มีความสมบูรณ์ถูกต้องยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะ วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่และอุปกรณ์ในการทำโครงการ พิเศษครั้งนี้

ขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และญาติพี่น้อง ที่ให้กำลังใจและสนับสนุนทางการศึกษาเป็น อย่างดีตลอดมา ขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัย พี่ปริญาเอก ปริญาโท รุ่นน้องและเพื่อนๆ ที่เป็น ที่ปรึกษา และมอบแต่สิ่งดีให้ตลอดเวลา ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่าน และเจ้าหน้าที่ ธุรการที่อำนวยความสะดวกในการทำโครงการพิเศษนี้เป็นอย่างดี

สุดท้ายนี้ประโยชน์อันเนื่องจากการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ ขอมอบแต่ คุณพ่อ คุณแม่ และ คณาจารย์ทุกท่านที่ได้เมตตาอบรมสั่งสอนให้มีความรู้จนถึงปัจจุบัน

นางสาวชุตินันท์ ศศิเมณฑล

นางสาวรินดา เหล่าจุม

นางสาววันวิสา พิลึก

เมษายน 2552

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	3
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	24
บทที่ 4 ผลการทดลอง	28
บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง	36
เอกสารอ้างอิง	38
ภาคผนวก ก	41
ภาคผนวก ข	42
ภาคผนวก ค	43
ภาคผนวก ง	46
ภาคผนวก จ	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 สาเหตุที่ทำให้เชื้อจุลชีพเข้าสู่ร่างกายในแต่ละทางและแนวทางการป้องกัน	6
ตารางที่ 2.2 แสดงหน้าที่ของเม็ดเลือดกึ่ง	10
ตารางที่ 4.1 ปริมาณเม็ดเลือดรวม, เซลล์เม็ดเลือดไฮยาลิน, เซมิกรานูลาร์ และกรานูลาร์	33
ตารางผนวกที่ 1 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อการเจริญเติบโตของกึ่งขาว เป็นเวลา 7 วัน	47
ตารางผนวกที่ 2 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อการเจริญเติบโตของกึ่งขาว เป็นเวลา 14 วัน ตารางผนวกที่ 3 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อ การเจริญเติบโตของกึ่งขาวที่วิเคราะห์แล้ว	48
ตารางผนวกที่ จ3 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อการเจริญเติบโตของกึ่งขาว ที่วิเคราะห์แล้ว	48
ตารางผนวกที่ 4 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่ออัตราการรอดของกึ่งขาว เป็นเวลา 14 วัน	49
ตารางผนวกที่ 5 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่ออัตราการรอดของกึ่งขาว ที่วิเคราะห์แล้ว	49
ตารางผนวกที่ 6 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อปริมาณเซลล์ถูกทำลาย เป็นเวลา 7 วัน	50
ตารางผนวกที่ 7 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อปริมาณเซลล์ถูกทำลาย เป็นเวลา 14 วัน	53
ตารางผนวกที่ 8 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อปริมาณเซลล์ถูกทำลาย ที่วิเคราะห์แล้ว	55
ตารางผนวกที่ 9 ผลการนับเม็ดเลือดของกึ่งขาวแต่ละชนิดก่อนเริ่มต้นการทดลอง	56
ตารางผนวกที่ 10 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อเม็ดเลือดไฮยาลินของ กึ่งขาวเป็นเวลา 14 วัน	56
ตารางผนวกที่ 11 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อเม็ดเลือดเซมิกรานูลาร์ ของกึ่งขาวเป็นเวลา 14 วัน	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางผนวกที่ 12 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดต่อเม็ดเลือดกรานูโลลาร์ของ กิ้งขาวเป็นเวลา 14 วัน	57
ตารางผนวกที่ 13 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดต่อกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอล ออกซิเดสเป็นเวลา 7 วัน	58
ตารางผนวกที่ 14 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดต่อกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอล ออกซิเดสเป็นเวลา 14 วัน	61
ตารางผนวกที่ 15 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดต่อปริมาณโปรตีนเป็นเวลา 7 วัน	64
ตารางผนวกที่ 16 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดต่อปริมาณโปรตีนเป็นเวลา 14 วัน	67
ตารางผนวกที่ 17 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดต่อกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอล ออกซิเดส (หน่วยต่อนาทีต่อมิลลิกรัมของโปรตีน) ที่วิเคราะห์แล้ว	69
ตารางผนวกที่ 18 ผลของเปอร์เซ็นต์การตายของกิ้งที่ติดเชื้อไวรัสก่อโรคจูดขาว	70
ตารางผนวกที่ 19 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดต่ออัตราการตายของกิ้งขาวหลังได้ รับไวรัสก่อโรคจูดขาว	70

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 กุ้งขาว	3
รูปที่ 2.2 Hematopoietic tissue	7
รูปที่ 2.3 ระบบเลือดในกุ้ง	7
รูปที่ 2.4 แสดงเม็ดเลือดของกุ้งทั้ง 3 ชนิด ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์	8
รูปที่ 2.5 แสดง ไฮยาลินเซลล์ ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนส่องกราด	8
รูปที่ 2.6 แสดง เซมิกรานูลาร์ ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	9
รูปที่ 2.7 แสดง กรานูลาร์ ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	9
รูปที่ 2.8 ลักษณะของโรคจุดขาวในกุ้ง	12
รูปที่ 2.9 ไวรัสโรคจุดขาว	12
รูปที่ 2.10 ต้นเซียด	14
รูปที่ 2.11 โครงสร้างทางเคมีของ Cinnamic acid	15
รูปที่ 2.12 โครงสร้างทางเคมีของยูจีนอล	16
รูปที่ 2.13 โครงสร้างทางเคมีของ Cinnamaldehyde	17
รูปที่ 2.14 โครงสร้างทางเคมีของ Coumarin	18
รูปที่ 4.1 น้ำหนักของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดเซียดที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 7 และ 14 วัน	28
รูปที่ 4.2 ความยาวของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดเซียดที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 7 และ 14 วัน	29
รูปที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การรอดตายของกุ้งขาวเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารเสริมสารสกัดเซียดที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน	30
รูปที่ 4.4 อัตราการตายของกุ้งขาวเมื่อได้รับไวรัสก่อโรคจุดขาวที่อัตราส่วนต่างๆ กัน เป็นเวลา 168 ชั่วโมง	31
รูปที่ 4.5 ปริมาณเซลล์ถูกทำลายหลังจากเลี้ยงด้วยอาหารเสริมสารสกัดเซียดที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน เป็นเวลา 7 วัน และ 14 วัน	32
รูปที่ 4.6 กิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (หน่วยต่อนาทีต่อมิลลิกรัมของโปรตีน) ที่ความเข้มข้นของสารสกัดในอาหารเลี้ยงกุ้งต่างๆ กัน เป็นเวลา 7 วัน และ 14 วัน	34
รูปที่ 4.7 เปอร์เซ็นต์การรอดตายของกุ้งขาวเมื่อได้รับไวรัสก่อโรคจุดขาวหลังจากเลี้ยงด้วยอาหารเสริมสารสกัดเซียดที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญที่มาของโครงการพิเศษ

กุ้งขาวแอฟริกาเป็นสัตว์เศรษฐกิจสำคัญของไทย ที่เกษตรกรไทยนิยมเลี้ยง ซึ่งตามท้องตลาดนิยมเรียกกันว่า “กุ้งขาว” เป็นกุ้งที่เลี้ยงง่าย มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว จึงเป็นที่นิยมเลี้ยงเป็นสัตว์เศรษฐกิจในประเทศไทยแทนกุ้งกุลาดำ แต่เนื่องจากมีคนเลี้ยงกุ้งขาวน้อยทำให้ไม่ทราบรายละเอียดเกี่ยวกับพฤติกรรม การเลี้ยง การให้อาหาร ตลอดจนปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลเกี่ยวกับการเลี้ยงกุ้งขาว ในปัจจุบันพบว่าเกษตรกรบางส่วนเริ่มประสบปัญหาในเรื่องของกุ้งเป็นโรค

โรคกุ้งขาวที่พบในระหว่างการเลี้ยงมีหลายชนิดส่วนใหญ่มักจะเป็นโรคที่มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อไวรัส ที่สำคัญได้แก่ โรคจุดขาว มีอีกชื่อหนึ่งว่า โรคดวงขาวหรือโรคตัวแดงดวงขาว มีสาเหตุมาจาก White Spot Syndrome Virus (WSSV) ลักษณะอาการของโรคนี้ในกุ้งขาวคล้ายกันกับที่พบในกุ้งกุลาดำที่มีการระบาดของโรคนี้อย่างรุนแรง ในปัจจุบันพบว่ากุ้งขาวเป็นโรคนี้เช่นกัน โรคจุดขาวระบาดในประเทศไทยตั้งแต่ปีพุทธศักราช 2537 จนถึงปัจจุบันโรคนี้ก็ยังพบระบาดอย่างต่อเนื่อง สร้างความเสียหายให้กับธุรกิจการเลี้ยงกุ้งอย่างมาก

ในปัจจุบันนี้ได้มีการทำวิจัยเกี่ยวกับการนำสารออกฤทธิ์ (active compound) ในสมุนไพรไทยมาใช้ในการยับยั้งไวรัสก่อโรคจุดขาวได้ ดังนั้นคณะผู้จัดทำจึงเห็นว่าสารสกัดที่ได้จากเปลือกต้นชะเอมมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาทดสอบการยับยั้งโรคจุดขาวนี้ในกุ้งขาว ต้นชะเอม (*Cinnamomum iners*) เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ Lauraceae เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง สูงประมาณ 15-20 เมตรไม่ผลัดใบ เปลือกเรียบสีเทาหรือสีเทาปนน้ำตาล สารประกอบที่พบในเปลือกของต้นชะเอมคือ alkaloids, condensed tannins, flavonoids, triterpenes และ antraquinone ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และสารต้านแบคทีเรีย (antimicrobel) เป็นต้น ซึ่งมีแนวโน้มที่จะสามารถยับยั้งไวรัสนี้ได้ จึงได้จัดทำโครงการพิเศษนี้ขึ้นเพื่อศึกษาผลของสารสกัดหยาบที่ได้จากเปลือกต้นชะเอมต่อการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวหรือการยับยั้งไวรัสก่อโรคจุดขาว

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

- 1.2.1 เพื่อศึกษาอัตราการรอดของกุ้งขาวที่แช่ในไวรัสก่อโรคจุดขาว
- 1.2.2 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของกุ้งขาวที่ได้รับไวรัสก่อโรคจุดขาว
- 1.2.3 เพื่อศึกษาระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นเชียดเปรียบเทียบกับกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปธรรมดา

1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

- 1.3.1 ศึกษาอัตราการรอดของกุ้งขาวที่แช่ไวรัสก่อโรคจุดขาว
- 1.3.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของกุ้งขาวหลังได้รับไวรัสก่อโรคจุดขาว
- 1.3.3 ศึกษาผลการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวโดยใช้สารที่สกัดได้จากเปลือกต้นเชียด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 สามารถนำความรู้ที่ได้มาประยุกต์ใช้ในการหาค่า Median Lethal Concentration 50% หรือ LC_{50} ของไวรัสก่อโรคจุดขาว
- 1.4.2 สามารถนำความรู้ที่ได้จากการทดลองไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงลักษณะทางสรีรวิทยาของกุ้งขาวให้ทนต่อโรคจุดขาว
- 1.4.3 สามารถนำความรู้ที่ได้จากการทดลองไปประยุกต์ใช้ในการยับยั้งไวรัสตัวแดงจุดขาวในการเลี้ยงกุ้งได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

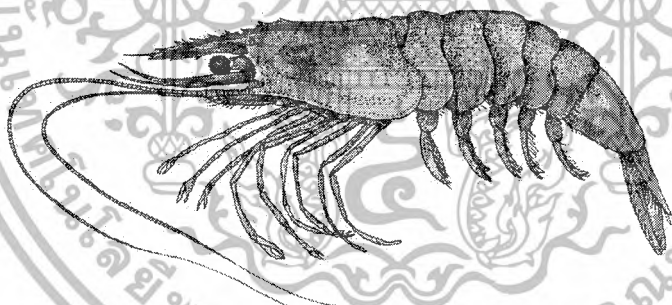
บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

2.1 กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*)

“กุ้งขาว” มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Litopenaeus vannamei* อยู่ในวงศ์พีเนียส (Penaeus) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกา โดยเฉพาะที่อเมริกากลางและอเมริกาใต้ เป็นที่นิยมเลี้ยงกันมากในแถบประเทศเปรู เม็กซิโก เอกวาดอร์ บราซิล เวเนซุเอล่าและปานามา และบางประเทศในเอเชีย เช่น จีน ไต้หวัน (ทีมงานสัตว์น้ำเศรษฐกิจ, 2546)

ชื่อภาษาอังกฤษของกุ้งชนิดนี้เมื่อก่อนไม่มีคำว่า “Lito” คือใช้เพียงคำว่า “Penaeus” ต่อมาในปี 1997 ดร.อิซาเบล เปเรย์ ฟาร์ฟานเต้ (Dr. Isabel Perez Farfante) และ ดร.ไบรอัน เคนลีย์ (Dr. Brian Kenley) ได้ยกระดับกุ้งชนิดนี้ขึ้นเป็นระดับสกุลพีเนียส (Genus Penaeus) แทนที่จะเป็นสกุลรอง (Sub Genus) โดยให้เรียกเป็น “*Litopenaeus vannamei*” แต่บางส่วนก็ยังคงใช้ *Penaeus vanamei* อยู่เช่นเดิม ดังนั้น *L. vannamei* หรือ *P. vannamei* นั้นเป็นกุ้งชนิดเดียวกัน (ภิญโญ, 2545)



รูปที่ 2.1 กุ้งขาว

ที่มา www.nautic-seafood.com/cm59/

2.1.1 ลักษณะทั่วไป

กุ้งขาวมีลำตัวขาวใส ขาสีขาว หางมีสีแดง โดยเฉพาะบริเวณปลายหางจะมีสีแดงเข้ม กรีจะมีแนวตรงปลายงุ้มลงเล็กน้อย เมื่อโตขึ้นพันกรีด้านบนจะมี 8 พัน และด้านล่าง 2 พัน ความยาวของกรีจะยาวกว่าลูกตาไม่มาก มีเมือกมากซึ่งไม่เหมือนกับกุ้งขาวบางชนิดที่สามารถสังเกตเห็นได้ว่ามีเมือกน้อย ลำตัวค่อนข้างแห้งเร็วเมื่อนำขึ้นมาจากน้ำ และที่สังเกตเห็นเด่นชัดที่สุดคือลำไส้ของกุ้งชนิดนี้จะโตเห็นได้ชัดกว่ากุ้งขาวชนิดอื่นๆ (ภิญโญ, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กอดตัวเมียไว้ในแนวนานกัน ซึ่งตัวผู้จะสลัดเอาถุงน้ำเชื้อเข้าไปเก็บไว้ในอวัยวะเพศของตัวเมีย ถุงน้ำเชื้อจะมีปีกบางๆ และมีสารเหนียวติดมาด้วย จะปิดอวัยวะเพศของตัวเมีย โดยมีสารเหนียวที่ปีกบางๆ เป็นตัวทำให้เกาะติด อวัยวะเพศของตัวเมียจะมีสีขาวจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและน้ำตาลอมเขียวในช่วงวางไข่ การผสมพันธุ์ของกุ้งขาวชนิดนี้สามารถผสมพันธุ์กันได้โดยไม่ต้องรอให้ตัวเมียลอกคราบ คือ จะผสมพันธุ์ในระหว่างคราบแข็งได้ (intermolt) หลังจากการผสมพันธุ์ประมาณ 2-3 ชั่วโมง แม่กุ้งจะเริ่มวางไข่ในตอนเย็น การเกี่ยวพาราสิและผสมพันธุ์จะมีขึ้นในช่วงบ่าย การวางไข่จะสังเกตจากอาการของแม่กุ้งที่ว่ายน้ำเร็วขึ้นสลัดกับการกระโดดเป็นครั้งคราว การวางไข่จะใช้เวลาประมาณ 1-3 นาที

สำหรับปริมาณไข่ของกุ้งขาวชนิดนี้จะน้อยมากขึ้นอยู่กับขนาดของพ่อแม่พันธุ์ ความสมบูรณ์ของพ่อแม่พันธุ์มีความสำคัญมาก น้ำเชื้อของตัวผู้มักจะ ไม่ค่อยแข็งแรง ดังนั้นการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์โดยให้อาหารที่ดีและรักษาอุณหภูมิที่เหมาะสมจึงเป็นเรื่องที่สำคัญมาก สำหรับพ่อแม่พันธุ์ของกุ้งชนิดนี้ แม่กุ้งที่มีน้ำหนักประมาณ 35-45 กรัม จะให้ไข่อยู่ระหว่าง 100,000-200,000 ฟอง ไข่จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.22 มิลลิเมตร และใช้เวลาประมาณ 16-17 ชั่วโมง จึงจะฟักเป็นตัวอ่อนระยะนาอเพลียส (nauplius) ซึ่งเป็นขั้นแรกของระยะลาร์วา (lavar) จะเข้าสู่ระยะโซเชีย (zoeca) ภายในเวลา 48-60 ชั่วโมง ซึ่งการพัฒนาตัวอ่อนเป็น 4 ระยะดังนี้

2.1.5.1 ระยะนาอเพลียส (nauplius) เป็นลูกกุ้งที่ฟักออกมาใหม่ๆ มีขนาดเล็กมากจนถึงวันที่ 2 มี 5 ระยะโดยการลอกคราบ คือระยะ N1-N5 ระยะยังไม่กินอาหารแต่ได้อาหารจากถุงอาหารที่ติดตัวมา ลูกกุ้งระยะนี้มักจมอยู่ที่พื้น

2.1.5.2 ระยะโซเชีย (zoeca) จากวันที่ 2 ถึงวันที่ 4 ลูกกุ้งมีลำตัวยาวขึ้น หัวโต ค่อยๆ ลอยตัวขึ้นสู่ผิวน้ำและเริ่มกินอาหารได้แก่แพลงก์ตอนพืชเล็กๆ มีการลอกคราบ 3 ครั้ง ซึ่งถือเป็นระยะ Z1-Z3 เคลื่อนไหวโดยใช้ระยางค์และส่วนอก (antennal and thoracic propulsion) มีอวัยวะภายในที่เจริญขึ้นอย่างเห็นได้ชัด คือ ตับและตับอ่อน (hepatopancreas) และหัวใจ (heart) ส่วนอวัยวะภายนอกจะเห็นกริขึ้นแหลม ตาจะยาวขึ้นเปลือกคลุมหัวออกมา มีก้านตายาว มี maxillopedes ครบทั้ง 3 อัน และเจริญเต็มที่

2.1.5.3 ระยะไมซิส (mysis) จากวันที่ 5 ถึงวันที่ 10 ระยะนี้มีการพัฒนารูปร่างและระยางค์ต่างๆ จนมีลักษณะคล้ายพ่อแม่ มองเห็นส่วนหัวและส่วนท้องแยกกันได้ชัด หนวดคู่แรกมีการแบ่งปล้องชัดเจน และที่ส่วนปลายจะแยกออกเป็น 2 เส้น มีการลอกคราบ 3 ครั้ง ซึ่งถือเป็นระยะ M1-M3 มีปล้องท้อง 6 ปล้อง ขาดินเริ่มมีข้อปล้องชัดเจน มองเห็นขาว่ายน้ำ เริ่มกินอาหารที่เป็นพวกแพลงก์ตอนสัตว์

2.1.5.4 ระยะลาร์วา (lavar) จากวันที่ 11 ถึงวันที่ 21 เป็นระยะตัวอ่อนขั้นสุดท้าย ลูกกุ้งระยะนี้จะมีขาเดิน 3 คู่แรก มองเห็นเป็นก้ามชัดเจน หางแคบเข้า ลำตัวใส มีเส้นสีน้ำตาลพาดยาวจากบริเวณหนวดถึงหาง ปล้องท้องปล้องที่ 6 (sixth abdominal segment) จะยาวกว่าปล้องหัว (carapace) เล็กน้อย มีระยางค์ครบเหมือนกุ้งเต็มวัย ลูกกุ้งระยะนี้จะมีวิวัฒนาการ 10 ระยะคือ ระยะ P1-P10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.6 ระบบภูมิคุ้มกันโรคของกุ้ง (กิจการ, 2543)

ระบบภูมิคุ้มกันโรคคือกลไกของสัตว์ในการป้องกันตัวเองต่อต้านและทำลายเชื้อจุลชีพที่จะทำให้สัตว์เกิดการป่วยและตาย ระบบภูมิคุ้มกันโรคของกุ้งจะประกอบไปด้วย 2 ส่วน คือ

2.1.6.1 ระบบป้องกันการเข้าสู่ร่างกายของเชื้อจุลชีพ เชื้อจุลชีพที่ก่อให้เกิดโรคจะสามารถเข้าสู่ร่างกายของกุ้งได้ 3 ทาง

- (1) ทางเปลือก
- (2) ทางเหงือก
- (3) ทางระบบทางเดินอาหาร

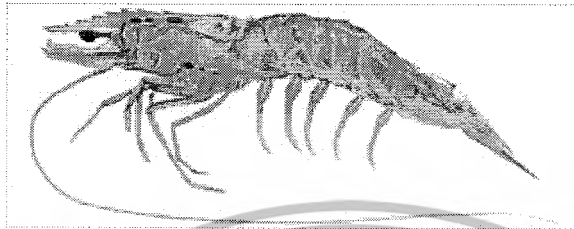
ตารางที่ 2.1 สาเหตุที่ทำให้เชื้อจุลชีพเข้าสู่ร่างกายในแต่ละทางและแนวทางการป้องกัน

ระบบการป้องกันเชื้อจุลชีพเข้าสู่ร่างกาย	สาเหตุที่ทำให้เชื้อเข้าสู่ร่างกายได้	การป้องกัน
เปลือก	บริเวณที่อยู่อาศัยของกุ้งมีของเสียอยู่มากเกินไปทำให้เกิดอาการหมวด ขากุด, หางกร่อน	รักษาสภาพพื้นบ่อไม่ให้เน่าเสีย และใช้จุลินทรีย์บำบัดของเสียอย่างต่อเนื่องตลอดการเลี้ยง
เหงือก	ปริมาณออกซิเจนในน้ำต่ำกว่า 3.0 ppm และมีก๊าซพิษซึ่งทำอันตรายกับเซลล์เหงือกทำให้เกิดการตายของเซลล์เหงือกและเป็นช่องทางให้เชื้อจุลชีพเข้าสู่ร่างกายได้	รักษาระดับออกซิเจนในน้ำไม่ให้ต่ำกว่า 3.0 ppm และควบคุมก๊าซพิษต่างๆ ให้อยู่ในระดับต่ำตลอดจนป้องกันตะกอนเข้าเหงือกและแพลงก์ตอนที่ทำให้เหงือกบาดเจ็บได้
ระบบทางเดินอาหาร	มีเชื้อจุลชีพในอาหารและสมดุลของจุลชีพในทางเดินอาหารไม่ดี	การให้โปรไบโอติกผสมอาหาร เพื่อรักษาสมดุลของจุลชีพที่มีประโยชน์ให้มีปริมาณที่มากพอ

2.1.6.2 ระบบทำลายเชื้อจุลชีพที่เข้าสู่ร่างกายกลไกการทำลายเชื้อก่อโรคที่เข้าสู่ร่างกายของกุ้งนั้นจะมีเม็ดเลือดกุ้งเป็นจุดศูนย์กลางในสัตว์ชั้นสูงที่มีวิวัฒนาการดีกว่ากุ้ง คือกลุ่มของสัตว์มีกระดูกสันหลัง เม็ดเลือดจะมี 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ทำหน้าที่ขนส่งออกซิเจนไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ในร่างกาย (เม็ดเลือดแดง) และกลุ่มที่เม็ดเลือดทำหน้าที่ในการทำลายจุลชีพที่ทำให้เกิดโรคในร่างกาย (เม็ดเลือดขาว) แต่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับกุ้งนั้นเม็ดเลือดของกุ้งจะทำหน้าที่กำจัดทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้าไปทำอันตรายต่อตัวกุ้งและน้ำเลือดของกุ้งจะมีสีน้ำเงินซึ่งเป็นสีของฮีโมไซยานินซึ่งมีองค์ประกอบที่สำคัญคือ ทองแดง จะทำหน้าที่ในการแลกเปลี่ยนและขนส่งออกซิเจนไปหล่อเลี้ยงเซลล์ที่เรียกกันว่า hematopoietic tissue ซึ่งพบได้ในบริเวณฐานของกรีและโคนขาเดินในส่วนอก



รูปที่ 2.2 Hematopoietic tissue

ที่มา <http://www.kungthai.com/Immune.html>

เมื่อเม็ดเลือดถูกสร้างขึ้นมาแล้วจะถูกส่งไปยังระบบหมุนเวียนเลือด ซึ่งจะเป็นระบบเปิดคือเลือดไม่ได้หมุนเวียนอยู่ในท่อเลือดตลอดเวลา เลือดจะถูกหัวใจบีบส่งไปเลี้ยงส่วนต่างๆของร่างกายแล้วจะไหลไปรวมกันที่แองเจอิดในส่วนของลำตัวบริเวณใต้ท้องซึ่งจุดนี้จะเป็นจุดรวมเลือดก่อนที่จะถูกหัวใจดึงไปฟอกที่เหงือกแล้วรับไปเลี้ยงส่วนต่างๆของร่างกายอีกครั้งหนึ่ง



รูปที่ 2.3 ระบบเลือดในกุ้ง

ที่มา <http://www.kungthai.com/Immune.html>

2.1.7 ชนิดของเม็ดเลือดกุ้ง (กิจการ, 2543)

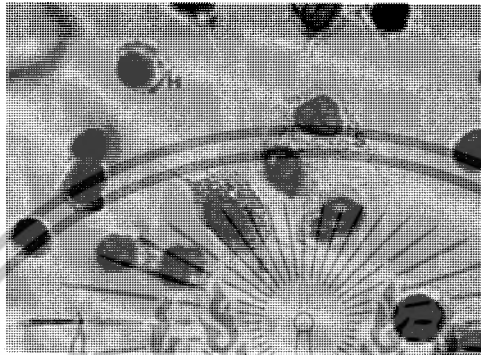
เม็ดเลือดของกุ้งมีด้วยกัน 3 ชนิด คือ

2.1.7.1 ไฮยาไลน์ เซลล์ (hyalin cell) เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีรูปร่างแบน กลม ผิวเรียบ บางครั้งจะพบว่า มีลักษณะคล้ายกระสวยเซลล์จะมีนิวเคลียส ขนาดใหญ่อยู่กลางเซลล์ มีไซโทพลาสซึมน้อย ไม่มีกรานูลภายในเซลล์เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีขนาดเล็กที่สุด ขนาดของเซลล์ยาว 6.8-13.6 ไมครอน กว้าง 6.4-8.3 ไมครอน เส้นผ่าศูนย์กลาง 5-6 ไมครอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.7.2 เซมิกรานูลลาร์ (semigranular hemocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่พบลักษณะของเม็ดกรานูลขนาดเล็ก อยู่ในเซลล์ในปริมาณที่ไม่มาก (cell process) ค่อนข้างมาก เซลล์มีขนาดความยาว 9.0-14.2 ไมครอน กว้าง 4.2-6.8 ไมครอน เส้นผ่าศูนย์กลาง 7-10 ไมครอน

2.1.7.3 กรานูลลาร์ (large granular hemocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีขนาดใหญ่ที่สุดและมีกรานูลขนาดใหญ่จำนวนมากอยู่ในไซโตพลาสซึม เซลล์มีขนาดความยาว 12.2-14.6 ไมครอน กว้าง 7.2-7.8 ไมครอน เส้นผ่าศูนย์กลาง 8-10 ไมครอน

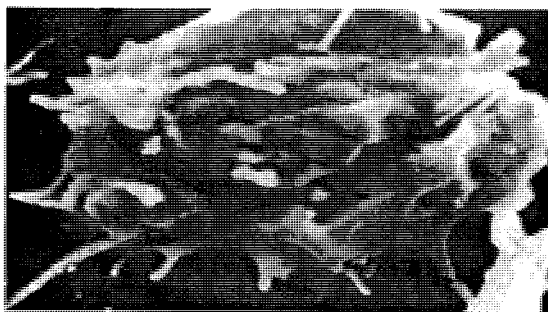


รูปที่ 2.4 แสดงเม็ดเลือดของกุ้งทั้ง 3 ชนิด ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์
H = ไฮยาลินเซลล์ S = เซมิกรานูลลาร์ L = กรานูลลาร์ Bar = 5 ไมครอน
ที่มา <http://www.kungthai.com/Immune.html>



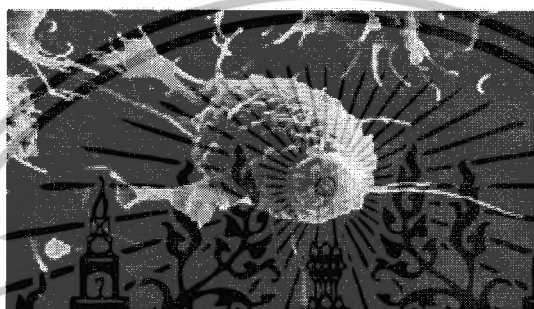
รูปที่ 2.5 แสดง ไฮยาลินเซลล์ ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนส่องกราด
ที่มา <http://www.kungthai.com/Immune.html>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 แสดงแมโครฟาจกลืนกินด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ที่มา <http://www.kungthai.com/Immune.html>



รูปที่ 2.7 แสดงแกรนูโลไซต์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ที่มา <http://www.kungthai.com/Immune.html>

การป้องกันตัวของกิ้งจะเริ่มขึ้นในทันทีที่ได้รับสิ่งแปลกปลอมโดยจะเกิดขึ้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

(1) เลือดเกิดการแข็งตัวเป็นขบวนการที่ยับยั้งการสูญเสียเลือดเมื่อเกิดบาดแผลและป้องกันการติดเชื้อผ่านบาดแผล การแข็งตัวของเลือด จะเกิดจากการทำงานของเม็ดเลือดไฮยาลินเซลล์ และโคแอกกูโลเจน (coagulogen)

(2) การกลืนทำลายสิ่งแปลกปลอม (phagocytosis) เมื่อเม็ดเลือดแมโครฟาจ พบสิ่งแปลกปลอมเข้าจะมีการยื่นไซโตพลาสซึมเข้าไปล้อมรอบสิ่งแปลกปลอมแล้วกลืนเข้าสู่ภายในเซลล์ ต่อมาจะมีการนำออกซิเจนเข้าสู่เซลล์และออกซิเจนจะถูกรีดิวซ์เป็นซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O_2^-) ต่อจากนั้นจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2), ซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออนยังสามารถเปลี่ยนรูปไปเป็นไฮดรอกซิลเรดิคัล (OH) ซึ่งทั้งซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O_2^-), ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และไฮดรอกซิลเรดิคัล (OH) จะเป็นตัวทำให้สิ่งแปลกปลอมที่ถูกกลืนกินเข้าไปในเซลล์ถูกทำลาย

(3) การสร้างโนดูล (noduledormation) ในกรณีที่มีสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อก่อโรคเข้าสู่ร่างกาย ในปริมาณมากจนเกินความสามารถของ การกลืนกินสิ่งแปลกปลอมจะทำลายได้ทัน เม็ดเลือดกิ้งจะมารวมตัวกันมากขึ้นเพื่อล้อมรอบไม่ให้สิ่งแปลกปลอมนั้นแพร่กระจายไปได้จนลุกลามไปทั่วร่างกาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(4) การห่อหุ้มสิ่งแปลกปลอม (encapsulation) การห่อหุ้มสิ่งแปลกปลอมจะเกิดขึ้นเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมขนาดใหญ่เข้าสู่ร่างกายหรือเชื้อที่ทำอันตรายกับร่างกายมีการขยายจำนวนจน การสร้างโนคลูสไม่สามารถควบคุมได้เม็ดเลือดจำนวนมากจะเข้ามาล้อมรอบและมีการทำงานของระบบ โพรฟีนอลออกซิเดสเข้ามาทำลายสิ่งแปลกปลอมร่วมด้วย

2.1.8 ระบบโพรฟีนอลออกซิเดส (prophenoloxidase system) (กิจการ, 2543)

เป็นกระบวนการสร้างเม็ดสีดำที่เรียกว่า เมลานิน (melanin pigment) โดยเมลานิน จะเป็นตัวทำลายสิ่งแปลกปลอมที่อยู่ในเม็ดเลือด ระบบโพรฟีนอลออกซิเดสจะทำงานโดยอาศัยองค์ประกอบของ เอนไซม์โพรฟีนอลออกซิเดสซึ่งจะพบได้ในเม็ดเลือดชนิดเซมิกรานูลาร์ และ กรานูลาร์ โดยจะมีการเก็บเอนไซม์ไว้ในเม็ดกรานูลที่อยู่ในไซโตพลาสซึมการทำงานของระบบจะเริ่มขึ้นเมื่อเม็ดเลือดที่มีกรานูลถูกกระตุ้นด้วยผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีองค์ประกอบจำพวกไลโปโพลีแซคคาไรด์หรือเบต้า -1,3 กลูแคนและผลผลิตสุดท้ายจะได้เป็นเมลานิน (melanin) ซึ่งเป็นพิษต่อจุลชีพ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้

ตารางที่ 2.2 แสดงหน้าที่ของเม็ดเลือดกึ่ง

หน้าที่	ชนิดของเม็ดเลือด		
	ไฮยาลิน	เซมิกรานูลาร์	กรานูลาร์
การแข็งตัวของเลือด	+	-	-
การกลืนทำลาย (phagocytosis)	-	+	+
การห่อหุ้มสิ่งแปลกปลอม (encapsulation)	-	+	+
ระบบโพรฟีนอลออกซิเดส (Prophenoloxidase system)	-	+	+

นอกจากการทำงานของเม็ดเลือดในการกำจัดทำลายสิ่งแปลกปลอมแล้วในน้ำเลือดของกึ่ง ยังมีสารประกอบทางชีวเคมีที่มีพิษต่อเชื้อที่ทำให้เกิดโรคอีกหลายชนิด สารชีวเคมีเหล่านี้รวมกันเรียกว่า สารน้ำ (humoral detenses) ได้แก่ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (antibacterial activity), แอคกลูตินิน (agglutinin), สารคล้ายไซโตไคน์ (cytokine-like), โมดูเลเตอร์ (modulator) และสารที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด (clotting factor)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.9 ปัจจัยที่ส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันโรคของกุ้งมีประสิทธิภาพต่ำลง (กิจการ, 2543)

2.1.9.1 ปริมาณออกซิเจนในน้ำโดยเฉพาะบริเวณผิวหน้าของดินซึ่งเป็นที่อยู่ของกุ้งไม่ควรต่ำกว่า 3.0 ppm หากมีน้อยกว่านั้นจะทำให้ ภูมิคุ้มกันต่ำลง

2.1.9.2 ปริมาณของเสียโดยเฉพาะอาหารที่ตกค้างมากเกินไปจากการคำนวณอาหารที่ไม่แม่นยำ

2.1.9.3 การตายของแพลงก์ตอนในบ่อปริมาณมาก ๆ (แพลงก์ตอนครอป)

2.1.9.4 การเสียมวลของจุลินทรีย์ในบ่อกุ้งทำให้เชื้อ *vibrio* spp. มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นเกิน 10^6 CFU

2.1.9.5 การเปลี่ยนแปลงสภาพต่างๆ ในบ่อเลี้ยงอย่างรุนแรง ไม่ว่าจะเกิดขึ้นเองหรือเกิดจากการใช้ยาและเคมีภัณฑ์

2.1.10 วิธีการปฏิบัติเพื่อให้ระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งมีประสิทธิภาพสูงขึ้น (กิจการ, 2543)

มีหลักอยู่ 3 ประการที่สำคัญ คือ

2.1.10.1 กุ้งควรได้รับอาหารเสริมที่มีคุณภาพเพราะอาหารสำเร็จรูปที่กุ้งกินนั้นเน้นในส่วนของสารอาหารหลักเช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เท่านั้น ยังขาดในส่วนของวิตามิน เกลือแร่ กรดอะมิโน กรดไขมัน เพื่อให้ร่างกายของกุ้งมีความสมบูรณ์ที่จะผลิตเม็ดเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

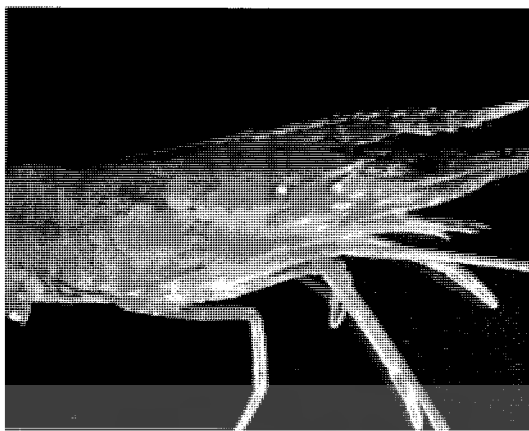
2.1.10.2 สามารถกระตุ้นการทำงานของ กุ้ง ได้โดยใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น ไลโปโพลีแซคคาร์ไรด์, เบต้า -1,3 กลูแคน, สาหร่ายเกลียวทองและโปรไบโอติก ผสมในอาหารให้กุ้งกินอย่างสม่ำเสมอ

2.1.10.3 พยายามรักษาสภาพแวดล้อมของกุ้งให้ดีอยู่ตลอดเวลามีการใช้จุลินทรีย์บำบัดของเสียอย่างต่อเนื่อง, เต็มอากาศให้เพียงพอ, คำนวณอาหารให้แม่นยำตลอดจนควรมีการคาดการณ์การเปลี่ยนแปลงของน้ำในบ่อและหาทางรับมือหรือแก้ไขปัญหที่เกิดขึ้น ตั้งแต่เนิ่นๆ เพราะหากปล่อยให้ปัญหารุนแรงขึ้นการแก้ไขจะทำได้ยากมาก ซึ่งถ้าสามารถทำได้ใน 3 ประการนี้ กุ้งก็จะแข็งแรงและไม่จำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะ แต่หากทำได้ไม่ครบทั้ง 3 ประการ การกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกุ้งให้มีประสิทธิภาพสูงที่สุดก็เป็นไปได้ยาก เนื่องจากแต่ละปัจจัยจะมีผลกระทบซึ่งกันและกัน ดังนั้นหากหวังแต่เพียงให้กุ้งกินสารกระตุ้นภูมิ แต่ไม่ได้ให้ความสำคัญกับอีก 2 ประการ ผลได้ก็ไม่ต่างจากการไม่ให้อาหารกระตุ้นภูมิคุ้มกันเลย

2.2 โรคจุดขาว (White Spot Syndrome) (กิจการ, 2543)

ไวรัสโรคจุดขาว (SEMBV: Systemic Ectodermal & Mesodermal Baculovirus) เป็นตัวการที่ทำให้เกิดโรคตัวแดงดวงขาวซึ่งสามารถถ่ายทอดมาจากแม่พันธุ์กุ้งและแพร่ระบาดจากพาหะต่างๆ เช่น ปูชนิดต่างๆ กุ้ง เคย เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 ลักษณะของโรคจุดขาวในกึ่ง

ที่มา <http://pacrc.uhh.hawaii.edu>

2.2.1 สาเหตุของโรคตัวแดงดวงขาว (กิจการ, 2543)

สาเหตุที่แท้จริง เกิดจากเชื้อไวรัสในกลุ่มแบคคิลโลไวรัส (Baculoviruses)



รูปที่ 2.9 ไวรัสโรคจุดขาว

ที่มา <http://pacrc.uhh.hawaii.edu>

2.2.2 คุณสมบัติ (กิจการ, 2543)

2.2.2.1 รูปร่างของเชื้อเป็นแท่ง (bacilliform morphology)

2.2.2.2 ขนาดใหญ่กว่าเชื้อหัวเหลือง ประมาณ 1 เท่า โดยมีความยาวเฉลี่ย 250-280 นาโนเมตร และมีเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อประมาณ 110 - 120 นาโนเมตร

2.2.2.3 ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าอนุภาคของไวรัสประกอบด้วยนิวเคลิโอแคปซิด (nucleocapsid) ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 70 นาโนเมตร มีความยาวเฉลี่ย 200-240 นาโนเมตร และล้อมรอบด้วยส่วนหุ้มอนุภาค (envelope) ซึ่งเป็นแบบ trilaminar envelope

2.2.2.4 ไม่สร้างอ็อกคลูชันบอดี

2.2.2.5 เมื่อนำเนื้อเยื่อไปย้อมสีพิเศษ acridine orange เพื่อแยกชนิด DNA หรือ RNA พบว่านิวเคลียสที่ติดปกตินั้นย้อมสีเขียว แสดงว่าเป็น DNA viruses

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2.6 การเพิ่มจำนวนอนุภาคไวรัสเกิดขึ้นภายในนิวเคลียส

2.2.2.7 ทำลายเนื้อเยื่อที่กำเนิดจาก ectoderm และ mesoderm จึงมีชื่อเรียกว่า Systemic Ectodermal & Mesodermal Baculovirus หรือ SEMBV ชื่อ SEMBV สามารถแพร่ระบาดได้อย่างรวดเร็ว กว้างขวาง ทั้งโดยทางน้ำและพาหะต่างๆ ซึ่งมีสัตว์หลายชนิดที่เป็นพาหะของโรคได้ดี เช่น ปู ชนิดต่างๆ กุ้งชนิดต่างๆ นอกจากนี้เชื้อไวรัสตัวนี้ยังมีความคงทนต่อยาฆ่าเชื้อชนิดต่างๆ ได้ดี เช่น คลอรีน บีเคซี กลูตาราลดีไฮด์ ไม่สามารถทำลายเชื้อนี้ได้ ในขณะที่แนะนำให้ใช้ทั่วไป แต่จะสามารถฆ่าได้ดีด้วยยาฆ่าเชื้อประเภท ฟอร์มาลินและเปอร์อะซิติก แอซิก

2.2.3 การทำให้เกิดโรคและลักษณะอาการป่วย (กิจการ, 2543)

กุ้งป่วยส่วนใหญ่จะเห็นลักษณะจุดขาวที่บริเวณเยื่อผิวหนังนอก ได้เปลือกอย่างชัดเจน ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของเชื้อ SEMBV ที่เข้าไปทำลายเซลล์เยื่อผิวหนังชั้นนอก ขนาดกว้างของจุดขาวมีขนาดไม่แน่นอน ตั้งแต่เล็กจนถึงใหญ่ โดยการจับกุ้งส่องผ่านแสงแดด อาการจุดขาวนี้ถ้าหมั่นสังเกตเอาใจใส่จะสังเกตเห็นได้ก่อนที่การกินอาหารลดลงเสียด้วย อาการตัวแดงไม่ใช่ลักษณะเฉพาะของโรคนี้ และมักจะเห็นในช่วงท้ายๆ เมื่อกุ้งป่วยนานๆ แล้ว โดยเฉพาะเมื่อมีสาเหตุแทรกซ้อนอื่นๆ โดยระยะหลังมักพบว่ากุ้งตายก่อนมีอาการตัวแดง อาการตัวแดงมักจะบ่งบอกว่ากุ้งป่วยมากและเป็นมานานแล้ว แต่ผู้เลี้ยงไม่สามารถสังเกตเห็นกุ้งป่วยในช่วงแรก อาการกุ้งกินอาหารลด ตายขอบบ่อ พบได้ทั่วไป เช่นเดียวกับโรคอื่นๆ อาการที่ป่วยจากสาเหตุของโรคอื่นๆ ที่อาจสับสนกับโรคจุดขาว

อาการจุดขาว เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย vibrio จะเป็นจุดเล็กขนาดหัวเข็มหมุดบริเวณ ชั้นนอกเปลือก จุดอาจจะมีทั้งสีขาว น้ำตาลจนถึงดำ เอามือลูบเปลือกจะรู้สึกสากๆ

อาการตัวแดง อาจเกิดจากเชื้อแบคทีเรียหรือคุณภาพน้ำ เช่น แอมโมเนีย ไนไตรท์ ในน้ำสูง ชนิดที่สาเหตุไม่รุนแรงจนถึงทำให้ตายอย่างรวดเร็ว แต่จะเรื้อรังเป็นระยะเวลานาน

กุ้งที่เป็นโรคจะว่ายน้ำอยู่บริเวณผิวน้ำหรือเกษขอบบ่อ ไม่มีแรงติดตัว กินอาหารลดลงบางครั้งพบกุ้งมีอาการลอกคราบไม่ออกหรือลอกคราบแล้วไม่แข็งตัว ตัวนี้มีอัตราการตายของกุ้งจากเกิดโรคสูงถึง 80-100 % ภายใน 4-5 วัน

2.2.4 ลักษณะทางพยาธิสภาพ (กิจการ, 2543)

ความเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในระดับเซลล์ที่มีกำเนิดมาจาก ectoderm และ mesoderm ซึ่งได้แก่ ลิมโฟออร์แกน (lymphoid organ) อวัยวะที่เกี่ยวข้องกับ การสร้างเม็ดเลือด (haemopoietic tissues) เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) กระเพาะอาหารและท่อทางเดินอาหารเป็นต้น เซลล์ของอวัยวะดังกล่าว โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์ผิวหนังชั้นนอก (cuticular epidermis) จะเกิดการเสื่อมสภาพ (degenerated) โดยที่นิวเคลียสของเซลล์ดังกล่าว จะขยายใหญ่ขึ้น (nuclear hypertrophy) ย้อมติดสีแดงของ eosin ในบางครั้งจะพบว่า รอบๆ นิวเคลียสที่ขยายใหญ่นั้นจะมีเส้นโครมาตินติดสีน้ำเงิน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(basophilic) ล้อมรอบ ภายใน lymphoid organ พบการล้อมสภาพของเยื่อหุ้ม (sheath) ร่วมกับ นิวเคลียสขยายใหญ่ ลักษณะที่ผิดปกติของเซลล์ที่กล่าวมา ตรวจพบทั้งในกึ่งที่ป่วยจากบ่อเลี้ยงและกึ่งที่ ทดลองฉีดสารสกัดในห้องปฏิบัติการ

2.3 ต้นเชียด (*Cinnamomum iners* Blume)

เชียด หรือ อบเชยไทย มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Cinnamomum iners* Blume อยู่ในวงศ์ Lauraceae

2.3.1 ชื่ออื่น : มหาปราบตัวผู้ อบเชย อบเชยต้น (ภาคกลาง) กระแจะโมง กระเชียด กระทั่งนั้น (ยะลา) กระ ดังงา (กาญจนบุรี) กระพังหัน โกล่ เนม้า (กะเหรี่ยง-กาญจนบุรี) เจียด เกียด เจียด ชะนุดัน (ภาคใต้) ดึก ชี้สอ (กะเหรี่ยง-เชียงใหม่) บอกคอก (ลำปาง) ฝักดาบ (พิษณุโลก) พญาปราบ (นครราชสีมา) สะวง (ปราจีนบุรี) (ก่องกานดา, 2540)



รูปที่ 2.10 ต้นเชียด

ที่มา <http://www.borneofocus.com>

2.3.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

2.3.2.1 ราก เป็นระบบรากแก้ว ในกรณีที่ย้ายพันธุ์โดยใช้เมล็ด

2.3.2.2 ลำต้น เป็นไม้เนื้อแข็งไม่ผลัดใบ ขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ สูง 15-20 เมตร ทรงพุ่มกลม หรือรูปเจดีย์ต่ำๆ ทั่ว เปลือกสีน้ำตาลอมเทา ค่อนข้างเรียบ เกือบ เปลือกและในมีกลิ่นหอมอบเชย (cinnamon) เมื่อเปลือกกึ่งก้านหรือเปลือกลำต้นแห้งจะมีลักษณะเป็นท่อนยาวและก้านกลม มักจะมีสี เหลืองเข้มหรือสีน้ำตาลส้ม

2.3.2.3 ใบ เป็นใบเดี่ยว ออกตรงข้าม หรือเยื้องกันเล็กน้อย รูปขอบขนาน กว้าง 2.5-7.5 เซนติเมตร ยาว 7.5-25 เซนติเมตร เนื้อใบ หนา เกือบ แข็ง และกรอบ มีเส้นใบออกจากโคนใบ 3 เส้น ยาวตลอดจนถึงปลายใบ ด้านล่างเป็นคราบขาวๆ ก้านใบยาว 0.5 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2.4 ดอก มีขนาดเล็ก สีเหลืองอ่อน หรือเขียวอ่อน ออกเป็นช่อแบบกระจายที่ปลายกิ่ง ยาว 10-25 เซนติเมตร ดอกมีกลิ่นเหม็น ส่วนใหญ่จะเป็นดอกสมบูรณ์เพศ

2.3.2.5 ผล มีขนาดเล็กรูปขอบขนาน ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร แข็ง ตามผิวมีคราบขาวๆ แต่ละผลมีเมล็ดเดียว ฐานรองรับผลเป็นรูปถ้วย (รุ่งรัตน์, 2540) (ก่องกานดา, 2540)

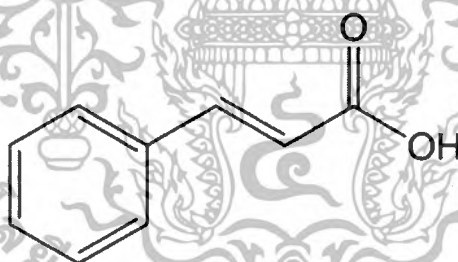
2.3.3 นิเวศวิทยา

โดยทั่วไปอบเชยเป็นพืชในเขตร้อน เจริญเติบโตได้ดีในประเทศไทย สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพดินเกือบทุกชนิด แต่จะเจริญเติบโตได้ดีในดินร่วนปนทราย ปลูกได้ในพื้นที่ตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนกระทั่งความสูงมากกว่า 2,000 ฟุต ที่มีปริมาณน้ำฝนประมาณปีละ 80 นิ้วเป็นอย่างน้อย (รุ่งรัตน์, 2540)

2.4 สารประกอบในต้นพืช

2.4.1 Cinnamic acid

cinnamic acid มีสูตรทางเคมี $C_6H_5CH=CHCOOH$ มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ซึ่งละลายน้ำได้เล็กน้อย ละลายได้ดีใน diethyl ether และไม่ละลายใน hexane Cinnamic acid มีจุดหลอมเหลวที่ 133 องศาเซลเซียส และมีจุดเดือดที่ 300 องศาเซลเซียส cinnamic acid ได้มาจากน้ำมันอบเชย หรือจาก balsam เช่น storax ซึ่งพบใน sheabutter



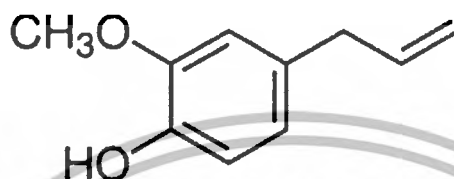
รูปที่ 2.11 โครงสร้างทางเคมีของ Cinnamic acid
ที่มา http://en.wikipedia.org/wiki/Cinnamic_acid

cinnamic acid ใช้ในการแต่งกลิ่นรส สีสรรวมสังเคราะห์ ยา และยังใช้ในการผลิต methyl, ethyl และ benzyl ester ในอุตสาหกรรมน้ำหอม cinnamic acid มีอยู่ในน้ำผึ้งและกลิ่นดอกไม้ cinnamic acid และ ethyl cinnamate เป็นส่วนประกอบในการแต่งกลิ่นน้ำมันหอมระเหยของอบเชย ซึ่งเกี่ยวข้องกับ cinnamaldehyde ที่เป็นส่วนประกอบสำคัญ cinnamic acid เป็นส่วนหนึ่งใน biosynthetic shikimate และ phenylpropanoid pathway ในการสังเคราะห์น้ำหอมจะใช้เอนไซม์ phenylalanine ammonia-lyase (PAL) ใน phenylalanine (ที่มา http://en.wikipedia.org/wiki/Cinnamic_acid)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 Eugenol

ยูจีนอลมีสูตรทางเคมี $C_{10}H_{12}O_2$ ซึ่งเป็นส่วนประกอบทางเคมีของ phenylpropanoid มีจุดหลอมเหลวที่ -9 องศาเซลเซียส และมีจุดเดือดที่ 256 องศาเซลเซียส มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลืองใส มีรสเผ็ดและมีกลิ่นหอม สกัดจากน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากกานพลู ต้นจันทเทศ เปลือกอบเชย และใบอบเชยเคียน ยูจีนอลละลายได้ในน้ำและสารละลายอินทรีย์



รูปที่ 2.12 โครงสร้างทางเคมีของยูจีนอล

ที่มา <http://en.wikipedia.org/wiki/Eugenol>

ยูจีนอลมีชื่อมาจากชื่อวิทยาศาสตร์ของกานพลู (*Eugenia aromaticum* หรือ *Eugenia caryophyllata*) ยูจีนอลเป็นส่วนประกอบสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากกานพลู ซึ่งประกอบด้วยยูจีนอลประมาณ 72-90 เปอร์เซ็นต์ของทั้งหมด

ยูจีนอลใช้ในการทำน้ำหอม สารปรุงแต่งอาหาร น้ำมันหอมระเหย ยาฆ่าเชื้อโรค ยาชา และเป็นส่วนผสมสำคัญในบุหรี่ยของชาวอินโดนีเซีย ยูจีนอลยังถูกนำมาผลิต isoeugenol เพื่อใช้สำหรับผลิตสาร vanillin ถึงแม้ว่า vanillin ส่วนมากจะผลิตมาจากฟีนอลและลิกนิน ในทางพันธุกรรมนำยูจีนอลผสมกับซิงค์ออกไซด์ใช้บรรเทาอาการปวดได้

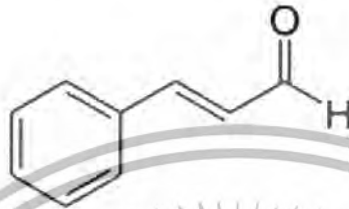
อนุพันธ์ของยูจีนอลนำมาใช้ในการผลิตน้ำหอมและสารปรุงแต่งกลิ่นรส ได้มีการนำมาใช้สร้างสารตั้งคูดเมลง ยาบรรเทาอาการเจ็บปวด และยาฆ่าเชื้อ มันเป็นหนึ่งในหลายส่วนประกอบที่เป็นสารตั้งคูดเพศผู้ในผึ้งหลายชนิด ซึ่งรวมกลุ่มอย่างชัดเจนทางเคมีเป็นฟีโรโมน นอกจากนี้ยังมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมสารกันบูดและสารต้านอนุมูลอิสระในการทำพลาสติกและยาง ถึงแม้ว่าจะพยายามพัฒนาอนุพันธ์ของยูจีนอลเพื่อฉีดเข้าเส้นเลือดดำ เช่น propanidid และ G.25.505 แต่ผลไม่เป็นที่ยอมรับของประชาชน

การได้รับยูจีนอลเข้าสู่ร่างกายเกินขนาดอาจก่อให้เกิดอาการปัสสาวะเป็นเลือด อาการชัก ท้องเสีย คลื่นไส้ เวียนศีรษะ หัวใจเต้นเร็วผิดปกติ อาจถึงขั้นหมดสติ ยูจีนอลอาจเป็นสาเหตุในการเกิดการแพ้ทางผิวหนัง ผู้ที่แพ้ น้ำหอมควรหลีกเลี่ยงยูจีนอล (ที่มา <http://en.wikipedia.org/wiki/Eugenol>)

2.4.3 Cinnamaldehyde หรือ Cinnamic aldehyde

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cinnamaldehyde เป็นส่วนประกอบทางเคมีที่ทำให้อบเชยมีกลิ่นและรสชาติ มีสูตรทางเคมี C_9H_8O มีจุดหลอมเหลวที่ -7.5 องศาเซลเซียส และมีจุดเดือดที่ 248 องศาเซลเซียส มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลืองข้นหนืดกว่าน้ำ ละลายน้ำได้เล็กน้อย cinnamaldehyde เกิดขึ้นตามธรรมชาติในเปลือกต้นอบเชย และพืชจำพวกการบูรและอบเชยในสกุล *Cinnamomum* น้ำมันหอมระเหยของเปลือกต้นอบเชยมี cinnamaldehyde ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 2.13 โครงสร้างทางเคมีของ Cinnamaldehyde

ที่มา <http://en.wikipedia.org/wiki/Cinnamaldehyde>

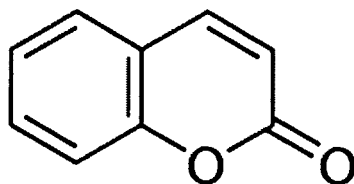
การโดน cinnamaldehyde ที่เข้มข้นจะทำให้เกิดการระคายเคืองผิวหนัง และเป็นพิษถ้าได้รับสารนี้ปริมาณมาก แต่ไม่มีหน่วยงานใดจะสงสัยว่าเป็นสารก่อมะเร็งหรือเป็นอันตรายต่อสุขภาพ cinnamaldehyde ส่วนใหญ่ คือน้ำยีสต์สารที่มี cinnamic acid รวมตัวกับออกซิเจนกลายเป็น cinnamaldehyde

cinnamaldehyde ส่วนใหญ่ใช้ปรุงแต่งกลิ่น เช่น หนามฝรั่ง ไอศกรีม ลูกกวาด และเครื่องดื่ม ซึ่งความเข้มข้นที่ใช้ปรุงแต่งน้อยกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ สารนี้ถูกใช้ในน้ำหอมบางชนิด กลิ่นผลไม้ เมล็ดอัลมอนด์ แอปริคอต บัตเตอร์สคอทช์ และกลิ่นหอมอื่นๆ cinnamaldehyde ยังใช้เพื่อเป็นยาฆ่าเชื้อรา ทดสอบว่ามีผลดีในพืชมากกว่า 40 ชนิด สารนี้นำไปใช้กับรากพืช เพราะมีพิษน้อยและมีคุณสมบัติที่รู้จักกันดีในทางเกษตร สารนี้มีผลในการฆ่าแมลงและกลิ่นของสารนี้ยังขับไล่สัตว์ เช่น สุนัข และแมว เมื่อไม่นานนี้ cinnamaldehyde เป็นที่ยอมรับว่ามีผลดีในการฆ่าตัวอ่อนของซึ่งใช้เพียง 29 ppm สามารถฆ่าครึ่งหนึ่งของตัวอ่อนของปลาใน 24 ชั่วโมง cinnamaldehyde เป็นตัวกัดกร่อนเหล็กและโลหะผสมเหล็ก สารนี้ยังสามารถใช้ผสมกับส่วนประกอบ เช่น สารที่เป็นตัวทำละลาย และสารลดแรงตึงผิวอื่นๆ

cinnamaldehyde ที่สกัดได้จาก *C. osmophloeum* ยับยั้ง xanthine oxidase ในหนู ดังนั้นอาจเป็นไปได้ที่จะรักษาโรคภาวะกรดยูริกในเลือดสูงและสัมพันธ์ในด้านการแพทย์รวมถึงโรคเก๊าท์ด้วย (ที่มา <http://en.wikipedia.org/wiki/Cinnamaldehyde>)

2.4.4 Coumarin

coumarin มีสูตรทางเคมี $C_9H_6O_2$ มีจุดหลอมเหลวที่ 71 องศาเซลเซียส และมีจุดเดือดที่ 301 องศาเซลเซียส พบในพืชจำนวนมาก พืชที่ให้สารนี้ที่ความเข้มข้นสูงได้แก่ ถั่ว tonka ต้นวนิลา woodruff mullein และหญ้าหวาน สารนี้มีกลิ่นหอมหวาน coumarin มีชื่อมาจากภาษาฝรั่งเศส คือ coumarou



รูปที่ 2.14 โครงสร้างทางเคมีของ Coumarin

ที่มา <http://en.wikipedia.org/wiki/Coumarin>

การสังเคราะห์ coumarin ในพืชทำได้โดยวิธี hydroxylation, glycolysis และ cyclization ของ cinnamic acid coumarin นี้สามารถเตรียมในห้องปฏิบัติการในปฏิกิริยา Perkin ระหว่าง salicylaldehyde และ acetic anhydride

coumarin ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติประกอบด้วย umbelliferone, aesculetin, herniarin, psoralen และ imperatorin อนุพันธ์ของ coumarin และ coumarin มาจาก phenylpropanoids

coumarin เป็นพิษปานกลางต่อตับและไต มีค่า LD_{50} เท่ากับ 275 mg/kg ซึ่งมีค่าต่ำเมื่อเทียบกับส่วนประกอบอื่นที่สัมพันธ์กัน ในสัตว์จำพวกหนูจะเผาผลาญ 3,4-coumarin epoxide เป็นส่วนมาก ส่วนประกอบนี้เป็นพิษทำให้เกิดการตกเลือดภายในและตายในที่สุด ส่วนในมนุษย์จะเผาผลาญ 7-hydroxy coumarin เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่มีพิษน้อยกว่า สถาบันประเมินอันตรายของสหพันธ์เยอรมันได้กำหนดปริมาณ coumarin ที่บริโภคในแต่ละวันเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว ซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ สำนักงานสุขภาพของยุโรปแนะนำให้หลีกเลี่ยงการบริโภคเปลือกอบเชย (cassia) เป็นจำนวนมาก เนื่องจากมี coumarin อยู่ และตามข้อกำหนดของสถาบันประเมินอันตรายของสหพันธ์เยอรมันนั้น ผงอบเชย (cassia) 1 กิโลกรัม ประกอบด้วย coumarin จำนวน 2100 ถึง 4400 มิลลิกรัมโดยประมาณ แสดงว่า 1 ช้อนชาของผงอบเชยมี coumarin อยู่ 5.8 ถึง 12.1 มิลลิกรัม ซึ่งอาจเป็นปริมาณที่มากสำหรับเด็ก อย่างไรก็ตาม มันเป็นเรื่องสำคัญที่สถาบันประเมินอันตรายของสหพันธ์เยอรมันเพิ่งจะกล่าวเตือนการบริโภคอาหารที่ประกอบด้วย coumarin เป็นปริมาณมาก

coumarin ค้นพบมากในผลิตภัณฑ์ยาสูบและกลิ่นวานิลลาเทียม อย่างไรก็ตาม ได้มีการห้ามเติม coumarin ลงในอาหารในหลายประเทศตั้งแต่คริสต์ทศวรรษที่ 20 coumarin ถูกห้ามเติมลงในอาหารในประเทศอังกฤษตั้งแต่ปีค.ศ.1978 OSHA ได้พิจารณาสารนี้เป็นสารก่อมะเร็งปอด และไม่จัดประเภทสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งในมนุษย์ coumarin ถูกห้ามเจือปนในบุหรี่ยาสูบในปีค.ศ.1997 แต่เนื่องจากการรายงานข้อเรียกร้องต่อกระทรวงสาธารณสุขและบริการประชาชนของสหรัฐอเมริกา จึงยังคงใช้เพิ่มกลิ่นรสในยาสูบ ขณะนี้ coumarin ได้มีรายชื่ออยู่ในสำนักงานอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา ใจความทั่วไปห้ามในเรื่องการเพิ่มหรือใช้เป็นอาหารในมนุษย์ เว้นแต่ coumarin ที่มีอยู่ในเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธรรมชาติ เช่น woodruff ซึ่งยอมให้ผสมในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เครื่องดื่มนี้เป็นที่นิยมมากในยุโรป ตัวอย่างเช่น Maiwein (ไวน์ขาวที่มี woodruff) และ Żubrówka (วอดก้าที่เติมหญ้า bison)

coumarin มีคุณสมบัติในการหยุดยั้งความอยากอาหาร โดยเฉพาะในหญ้า แต่มีผลกระทบน้อยต่อสัตว์กินหญ้า ในทางการแพทย์ได้นำ coumarin มาใช้ในการรักษาโรค lymphedema ผู้ที่มีอาการแพ้ น้ำหอมควรหลีกเลี่ยงสารนี้ (ที่มา <http://en.wikipedia.org/wiki/Coumarin>)

2.5 รายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Alzoreky และ Nakahara (2003) ศึกษาความสามารถของสารสกัดจากพืชที่กินได้จากจีน ญี่ปุ่น ไทย และเยเมน ในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อ *B. cereus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* และ *S. infantis* ซึ่งค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดของสารสกัดของพืชที่มีต่อแบคทีเรียเหล่านี้เป็น 165-2,640 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสารสกัดจาก *Azadirachta indica*, *Cinnamomum cassia*, *Rumex nervosus*, *Ruta graveolens*, *Thymus serpyllum* และ *Zingiber officinale* จะยับยั้งการเติบโตของ *B. cereus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 165-660 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ *E. coli* และ *S. infantis* จะถูกยับยั้งด้วย *Cinnamomum cassia* เพียงชนิดเดียวที่ความเข้มข้นสูงถึง 2,640 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันจากเปลือกอบเชยเทศ (*Cinnamomum verum* J.Presl) ซึ่งวิเคราะห์โดยวิธี GC-MS พบว่าสารสำคัญอยู่ 3 ชนิด คือ cinnamaldehyde, coumarin, cinnamic acid ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Shelef (1983) และ Ka และคณะ (2003) ที่พบว่าสารสำคัญหลักที่แยกได้จากน้ำมันเปลือกอบเชย ได้แก่ สาร cinnamaldehyde และ eugenol แต่ Hu และคณะ (1985) ได้แยกสารในน้ำมันอบเชย พบสาร cinnamaldehyde และ coumarin สาร cinnamaldehyde มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ยังสามารถนำมาใช้ในการต้านมะเร็งและยับยั้งการกลายพันธุ์ของจุลินทรีย์ก่อโรค (หิรัญ., 2548 ; อ้างตาม Shelef., 1983., Ka และคณะ 2003 และ Hu และคณะ., 1985)

พรรณี (2550) ได้ทำการตรวจหาปริมาณสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดเมทานอลจากเปลือกต้นนวงศอบเชย 8 ชนิด โดยทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระ DPPH แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงพบว่า สารสกัดเมทานอลของเปลือกต้นกระทิงใบใหญ่ (*Litsea grandis* Hook. f.) เยียน (*Neolitsea zeylanica* Merr.) เทพทาโร (*Cinnamomum porrectum* (Roxb.) Kosterm.) เชียด (*Cinnamomum iners*) ทังบอน (*Phoebe grandis* (Nees) Merr.) ทำมิ่ง (*Litsea petiolata* Hook. f.) ยางบง (*Persea Kurzii* Kosterm) และหมี่เหม็น (*Litsea glutinosa* C.B. Robins.) มีค่า $EC_{50} = 12.857, 6.214, 4.031, 4.083, 9.340, 7.64, 8.450$ และ 11.776 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และทั้งหมดมีค่าน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับ EC_{50} ของสารอ้างอิง BHT (11.820 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเปลือกต้นของพืชเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง โดยเทพทาโรมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รองลงมาได้แก่ เชียด เอียน ทำมั่ง ยางบง ทังบอน และหมีเหม็น ยกเว้นเปลือกต้นกระทังใบใหญ่ซึ่งมีค่า EC_{50} สูงกว่าสารอ้างอิง BHT

สารสกัดแทนนินในใบฝรั่งที่ได้จากการต้มมีประสิทธิภาพในการยับยั้งยั้งเชื้อไวรัสที่ก่อโรคในกุ้งกุลาดำได้ดี โดยความร้อนไม่มีผลต่อสารแทนนิน (Pensri, B., Orn-anong, K. และ Manop, H., 2005)

สถาพรและอุษณีย์ (2535) ในการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งกับเชื้อไวรัสที่แยกได้จากกุ้งกุลาดำที่เป็นโรค จำนวน 23 สายพันธุ์คือ *Vibrio harveyi* 9 สายพันธุ์, *V. splendidus* 7 สายพันธุ์, *V. parahaemolyticus* 2 สายพันธุ์, *V. minicus* 1 สายพันธุ์, *V. vulnificus* 1 สายพันธุ์, *V. fluvialis* 1 สายพันธุ์, *V. cholerae* 1 สายพันธุ์, *V. alginolyticus* 1 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อแบคทีเรีย 21 สายพันธุ์ จะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตด้วยสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่เชื้อ *V. splendidus* 1 สายพันธุ์ และ *V. minicus* 1 สายพันธุ์ สามารถเจริญได้ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัด 5 มก/มล. สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ทุกสายพันธุ์

ธิดาพรและคณะ(2550) ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรไทย 3 ชนิด ได้แก่ ข่า (*Alpinia galanga*) กระวาน (*Amomum testaceum*) กระชาย (*Boesenbergia pandurata*) ในการยับยั้งแบคทีเรียที่แยกได้จากกุ้งทะเล โดยใช้วิธี Agar disc diffusion assay พบว่าสารสกัดจากข่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ได้ดี ส่วนสารสกัดจากกระวาน และกระชาย ไม่มีผลในการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าว เมื่อนำสารสกัดข่ามาทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย พบว่าสามารถยับยั้ง *Vibrio cholerae*, *V. Fluvialis*, *V. minicus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* และ *V. parahaemolyticus* ได้ดี ตามลำดับ ส่วน *V. harveyi* มีความไวต่อสารสกัดข่าน้อยที่สุด เมื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration : MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการกำจัดแบคทีเรีย (Minimum bactericidal Concentration: MBC ของ *V. cholerae* มีค่าเท่ากับ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากข่ามีผลในการยับยั้งแบคทีเรียที่แยกได้จากกุ้งทะเล

โสมลดและคณะ(2550) สารสกัดจากพรรณไม้ น้ำพรมมิอบแห้งที่สกัดด้วยเอทานอลแล้วนำมาเคลือบอาหารกุ้ง ให้กุ้งขาวแวนนาไม (*Penaeus vannamei*) ระยะ โปสลาวา 15 กินนาน 2 เดือน เมื่อทำการทดสอบความสามารถในการต้านทานเชื้อ *Vibrio harveyi* ด้วยการแช่เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่ากุ้งขาวที่ไม่ได้กินอาหารผสมสารสกัดจากพรมมิมีอัตราการรอด 35.00 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กุ้งขาวแวนนาไมชุดที่ได้กินอาหารผสมสารสกัดจากพรมมิความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 ppm พบว่ามีอัตราการรอดสูงกว่าชุดควบคุมคือ 60.00, 62.50 และ 92.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถช่วยให้กุ้งขาวแวนนาไมต่อต้านเชื้อ *Vibrio harveyi* ได้ดีที่สุด ผลการตรวจนับจำนวนเม็ดเลือด (total haemocyte count) ของกุ้งขาวแวนนาไมขนาด 8 กรัม ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารสกัดจากเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พรรณไม้ น้ำพรมมีความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 ppm นาน 2 เดือน พบว่าปริมาณเม็ดเลือดรวมในชุดความเข้มข้น 1,000 ppm เพิ่มขึ้นมากกว่าทุกชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

แคนทาแซนทีนนอกจากจะเพิ่มสีเนื้อแล้วยังพบว่าการเสริมแคนทาแซนทีนในอาหารเลี้ยงมีผลในการเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดรวมในตัวกุ้ง ความต้านทานโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* และไวรัสตัวแดงดวงขาวได้ โดยมีอัตราการรอดตายที่ 90% และ 50% ตามลำดับ (Juliwan และ Visuthi., 2004) และสารจากจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถเพิ่มความไวของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสได้ เช่น 1,3 เบต้ากลูแคน (β -1,3 glucan) เปปติโดไกลัยแคน (peptidoglycan) และไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) (Smith และ Soderhall.,1983 ; Ashida, Soderhall และ Hall.,1984; Lanz และคณะ.,1993 ; Song และ Hsieh.,1994 ; อ้างตาม Juliwan,Visuthi., 2004)

กุ้งขาวได้รับอาหารไม่เสริมและเสริม sodium alginate เป็นเวลา 5 เดือน แล้วได้รับเชื้อ *V. alginolyticus* ปริมาณ 2×10^6 cfu ต่อกุ้งหนึ่งตัว เลี้ยงต่อน้ำทะเลความเค็ม 15 พีพีที หลังจากได้รับเชื้อ 1 วัน กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริม sodium alginate ที่ระดับ 2.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราการรอดสูงสุด และหลังจากได้รับเชื้อ 2-4 วัน กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริม sodium alginate ที่ระดับ 0.5 และ 1.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการรอดเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม การเสริม sodium alginate ที่ระดับ 2.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารหรือน้อยกว่าสามารถเพิ่มการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งขาวได้ส่งผลให้กุ้งมีความต้านทานจากการติดเชื้อ *V. alginolyticus* เพิ่มขึ้น (กุ้งขาวได้รับอาหารไม่เสริมและเสริม sodium alginate เป็นเวลา 5 เดือน แล้วได้รับเชื้อ *V. alginolyticus* ปริมาณ 2×10^6 cfu ต่อกุ้งหนึ่งตัว เลี้ยงต่อน้ำทะเลความเค็ม 15 พีพีที หลังจากได้รับเชื้อ 1 วัน กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริม sodium alginate ที่ระดับ 2.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราการรอดสูงสุด และหลังจากได้รับเชื้อ 2-4 วัน กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริม sodium alginate ที่ระดับ 0.5 และ 1.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการรอดเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม การเสริม sodium alginate ที่ระดับ 2.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารหรือน้อยกว่าสามารถเพิ่มการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งขาวได้ส่งผลให้กุ้งมีความต้านทานจากการติดเชื้อ *V. alginolyticus* เพิ่มขึ้น (กุ้งขาวได้รับอาหารไม่เสริมและเสริม sodium alginate เป็นเวลา 5 เดือน แล้วได้รับเชื้อ *V. alginolyticus* ปริมาณ 2×10^6 cfu ต่อกุ้งหนึ่งตัว เลี้ยงต่อน้ำทะเลความเค็ม 15 พีพีที หลังจากได้รับเชื้อ 1 วัน กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริม sodium alginate ที่ระดับ 2.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราการรอดสูงสุด และหลังจากได้รับเชื้อ 2-4 วัน กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริม sodium alginate ที่ระดับ 0.5 และ 1.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการรอดเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม การเสริม sodium alginate ที่ระดับ 2.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารหรือน้อยกว่าสามารถเพิ่มการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งขาวได้ส่งผลให้กุ้งมีความต้านทานจากการติดเชื้อ *V. alginolyticus* เพิ่มขึ้น (จุไลวรรณ., 2548)

การเสริมวิตามินซีในอาหารเลี้ยงกุ้ง ในปริมาณ 400 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ทำให้กุ้งสามารถกำจัดเชื้อออกจากร่างกายได้ดี ส่งผลให้มีอัตราการรอดตายหลังการได้รับเชื้อแบคทีเรียสูงกว่ากุ้งที่ไม่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีและการเสริมวิตามินอี 400 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ทำให้ปริมาณเม็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลือดในระบบไหลเวียนเลือดเพิ่มขึ้น และส่งผลให้การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันด้านเซลล์โดยการ
ทำงานของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสสูงขึ้น (Jumroensri, P., Janejit, K. และ Juliwan, R., 2008)

การเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อซีเมนต์แบบปิดระบบหมุนเวียนน้ำที่ความหนาแน่น 100 ตัวต่อตาราง
เมตร กุ้งมีการเจริญเติบโตทั้งทางด้านน้ำหนักตัวและความยาวมากที่สุด (Kriengsak, P. และคณะ.,
2007)

การศึกษาการแสดงออกของยีนในเม็ดเลือดของกุ้งกุลาดำที่ถูกกระตุ้นด้วยเชื้อไวรัสตัวแดงจุด
ขาวและเชื้อแบคทีเรียไวรัสโอฮาไวอายุกุ้งที่ฉีดด้วยไวรัสตัวแดงจุดขาวมีจำนวนยีนที่มีการเปลี่ยนแปลง
การแสดงออก (up- and down-regulated genes) มากที่สุดที่เวลา 6 และ 24 ชั่วโมงหลังฉีดเชื้อ ตามลำดับ
และยังพบว่ายีนโปรตีนโรโบโซมอล มีการแสดงออกสูงขึ้นด้วย แสดงให้เห็นว่ามีการสร้างโปรตีนที่
เพิ่มขึ้นในกุ้งที่ถูกกระตุ้น นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับ
ภูมิคุ้มกันหลังถูกกระตุ้นด้วยเชื้อก่อโรคอีกด้วย (R. Wongpanya1., 2005)

การเสริมควินินพลัส 0.1เปอร์เซ็นต์ ในอาหารให้กับกุ้งขาวมีส่วนช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต
อัตราการรอดและการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ ปริมาณของเม็ดเลือดรวม (THC) กิจกรรม
การทำลายเชื้อของเม็ดเลือดกุ้ง (Bactericidal activity) กิจกรรมการกลืนทำลายสิ่งแปลกปลอมของเม็ด
เลือดกุ้งและกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (PO activity) (ชลอ และคณะ., 2551)

กุ้งขาวแปซิฟิก *P. vannamei* มีการเปลี่ยนแปลง ทางด้านระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ การนับเซลล์
เม็ดเลือดรวม, เอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสและการหายใจ และลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ กลูโคส แลคเตส
และลิปิดเมื่อทำการกระตุ้นด้วย *V. alginolyticus* (Hsu และ Chen., 2007)

ซาโปนิน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในกุ้งที่ถูกกระตุ้นด้วย *V. alginolyticus* ทำให้ ปริมาณเซลล์เม็ด
เลือดรวม (total haemocytes count, THC), เฮลฟา-2-เอ็ม แอคทิวิตี (a2-M activity), respiratory burst,
กิจกรรมซูเปอร์ออกไซด์ดิสมูเตส (superoxide dismutase activity, SOD), GPx activity, กิจกรรมการ
กลืนทำลาย (phagocytic activity) เพิ่มขึ้นแต่กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase
activity) จะลดลง (Bo-Kun Su และ Jiann-Chu Chen., 2007)

กุ้งก้ามกรามที่สภาวะ hypoxia ที่มีออกซิเจนละลายอยู่ 2.75 และ 4.75 มิลลิกรัมต่อลิตรระบบ
ภูมิคุ้มกันจะลดลงเมื่อถูกกระตุ้นด้วยเชื้อ *Enterococcus* (Winton Cheng และคณะ., 2002) ในกุ้งขาวที่
ถูกกระตุ้นด้วยเชื้อ *V. alginolyticus* และได้รับ dopamine 10^6 โมล จะลดความสามารถในการตอบสนอง
ทางด้านระบบภูมิคุ้มกันลง โดยลดกิจกรรมของปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม (total haemocytes count,
THC), กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase activity) กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออก
ซิเดส (phenoloxidase activity), respiratory burst, กิจกรรมซูเปอร์ออกไซด์ดิสมูเตส (superoxide
dismutase activity, SOD), กิจกรรมการกลืนทำลาย (phagocytic activity) and clearance efficiency
(Winton Cheng และคณะ., 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิและพีเอชที่สูงมีผลต่อระบบเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสและจำนวนของเซลล์เม็ดเลือดรวมของกิ้งก่ามกรามที่ถูกกระตุ้นด้วยเชื้อ *Enterococcus* (Winton Cheng และ Jiann-Chu Chen., 2000) อุณหภูมิ พีเอช ความเค็ม ปริมาณของออกซิเจนและแอมโมเนียที่ละลายในน้ำมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันในกิ้งก่ามกรามที่ถูกกระตุ้นด้วยเชื้อ *L. garvieae* เช่นกระบวนการฟาโกไซโตซิส และการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของกิ้ง (Winton Cheng และคณะ.,2003)

ความเค็มและพีเอชมีผลต่อปริมาณเม็ดเลือด (Hemocyste count), กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase activity), กิจกรรมการทำลายแบคทีเรีย (Bacteriolytic activity) และกิจกรรมการต่อต้านแบคทีเรีย (Antibacterial activity) โดยความเค็มลดปริมาณเม็ดเลือดกิ้งลดลง กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase activity) เพิ่มขึ้นเมื่อความเค็มลดลง ค่ากิจกรรมการทำลายแบคทีเรีย (Bacteriolytic activity) และกิจกรรมการต่อต้านแบคทีเรีย (Antibacterial activity) เพิ่มขึ้นเมื่อความเค็มสูงขึ้น ส่วนผลของพีเอช ปริมาณเม็ดเลือดลดลงตามความเปลี่ยนแปลงพีเอชในช่วง 8.0 – 8.5 ค่า กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase activity) เพิ่มขึ้นที่การเปลี่ยนแปลงพีเอชจาก 8.0 ค่า กิจกรรมการทำลายแบคทีเรีย (Bacteriolytic activity) เพิ่มขึ้นที่พีเอช 7.0, 7.5, 9.0 และ 9.5 ค่า กิจกรรมการต่อต้านแบคทีเรีย (Antibacterial activity) เพิ่มขึ้นที่พีเอช 7.0, 7.5, 9.0 และ 9.5 (Jing-jing, M., 2005)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 สารสกัดหยาบจากต้นเขียด

สารสกัดหยาบจากเปลือกของต้นเขียดในเอทิลแอลกอฮอล์

3.1.2 อาหารสำเร็จรูปสำหรับกึ่งขาว

3.1.3 น้ำเค็ม

น้ำเกลือเข้มข้นมาเจือจางด้วยน้ำประปาโดยให้ความเค็มประมาณ 15 พีพีที (ppt)

3.1.4 อุปกรณ์

3.1.4.1 ตู้กระจก 8 ตู้

3.1.4.2 เครื่องระเหยสุญญากาศ

3.1.4.3 เครื่องกรอง

3.1.4.4 ขวดดูแรน

3.1.4.5 ปีกเกอร์

3.1.4.6 แท่งแก้ว

3.1.4.7 กระจกกรอง

3.1.4.8 กรวยแก้ว

3.1.4.9 ดรอปเปอร์

3.1.4.10 Aluminum Foil

3.1.4.11 Microcentrifuge tube

3.1.4.12 เครื่องปั่นเหวี่ยง

3.1.4.13 เครื่องชั่งสี่ตำแหน่ง

3.1.4.14 เครื่องวัดพีเอช

3.1.4.15 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง

3.1.4.16 เครื่อง Microplate reader

3.1.4.17 Microplate 96 หลุม

3.1.4.18 กระจกบอทดวง 100, 500 มิลลิลิตร

3.1.4.19 กระจกบอคนีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร

3.1.4.20 ออโตปิเปต (autopipette)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.1.4.21 ซ้อนตัดสาร
- 3.1.4.22 เครื่องนึ่งอัดไอความดันสูง
- 3.1.4.23 ขวดปรับปริมาตร 250 มิลลิลิตร
- 3.1.4.24 Phase-contrast microscope
- 3.1.4.25 Ion conductivity meter

3.1.5 สารเคมี

- 3.1.5.1 เอทิลแอลกอฮอล์ (95% ethanol)
- 3.1.5.2 10% โซเดียมซิติเรท
- 3.1.5.3 L-3, 4-dihydroxyphenylalanine
- 3.1.5.4 Trypsin
- 3.1.5.5 nitroblue tetrazolium
- 3.1.5.6 phosphate buffer
- 3.1.5.7 cacodylate buffer
- 3.1.5.8 TEN buffer
- 3.1.5.9 ไข่ขาว
- 3.1.5.10 DI water

3.1 วิธีการทดลอง

3.2.1 การศึกษาอัตราการรอดของกุ้งขาวที่ถูกเลี้ยงร่วมกับไวรัสก่อโรคจุกขาว

3.2.1.1 การเพิ่มจำนวนไวรัสก่อโรคจุกขาว

การนำไวรัสก่อโรคจุกขาวฉีดเข้ากล้ามเนื้อกุ้งแต่ละตัวปริมาตร 50 ไมโครลิตร ทั้งหมด 30 ตัว จากนั้นนำกุ้งที่ติดเชื้อมาเพาะโดยผสมกับ TEN buffer แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3600 รอบ เป็นเวลา 20 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส เก็บส่วนใสที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรองวอชแมนเบอร์ 1 นำส่วนใสที่ได้จากการกรองไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็นสารละลายเชื้อไวรัสสำหรับการทดลองต่อไป

3.2.1.2 การหาปริมาณต่ำสุดของไวรัสก่อโรคจุกขาวที่ทำให้กุ้งตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ 96 ชั่วโมง

การเลี้ยงกุ้งขาว 4 ตู้ แต่ละตู้มีกุ้ง 10 ตัว ในน้ำเค็มที่ไม่มีและมีการเติมไวรัสในอัตราส่วนของไวรัส 1 ต่อน้ำเค็ม 100, 500 และ 1000 โดยเติมสารละลายเชื้อไวรัสจากข้อ 3.2.1.1 ปริมาตร 200, 20, 2 ไมโครลิตร ในน้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ และสังเกตอัตราการตายของกุ้งขาวทุกๆ 24 ชั่วโมง จนกระทั่งครบ 7 วัน

3.2.2 การศึกษาผลของอาหารที่ผสมสารสกัดหยาบจากเปลือกหอยต่อลักษณะทางสรีรวิทยา

ของกุ้งขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.1 การเตรียมอาหาร

เตรียมสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นเชียดในตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ ทำโดยการนำเปลือกของต้นเชียดมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 – 60 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเปลือกที่อบแล้วมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด นำเปลือกต้นเชียดที่บดแล้วมาชั่งให้เท่ากับ 300 กรัม และแช่ในตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ จนสารละลายท่วมเปลือกของต้นเชียด ทิ้งไว้ 3 วัน จากนั้นนำสารละลายที่ได้มารองเพื่อเอากากของเปลือกต้นเชียดออก โดยใช้กระดาษกรองวอชแมนเบอร์ 1 โดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศกรองจนกว่าจะไม่มีตะกอนของเปลือกต้นเชียด นำส่วนของสารละลายที่กรองได้ ไปทำให้เข้มข้นขึ้นโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ เพื่อระเหยเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัดหยาบที่เราต้องการ นำสารสกัดหยาบที่ได้มาเก็บในที่ที่พื้นแสง สารสกัดหยาบจะเป็นสารสีน้ำตาลเข้ม มีลักษณะข้นเหนียว มีกลิ่นฉุน

เตรียมอาหารกึ่งกับส่วนผสมของสารสกัดหยาบจากเปลือกเชียด โดยการผสมสารที่สกัดได้จากเปลือกต้นเชียดมาผสมกับอาหารสำเร็จรูปโดยกำหนดระดับความเจือจางเป็น 0, 1, 10, 100, 1000 เท่า โดยมีความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 0, 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยที่ความเข้มข้น 0 จะเป็นชุดควบคุมที่ไม่มีการปนสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นเชียดลงไป นำสารละลายของแต่ละความเจือจางมา 10 มิลลิลิตร ทำการปนสารสกัดหยาบลงบนอาหารสำเร็จรูปความเจือจางละ 500 กรัม หลังจากนั้นทิ้งให้แห้งแล้วเคลือบด้วยไขขาว แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น

3.2.2.2 การเตรียมกุ้งขาว

เลี้ยงกุ้งทั้งหมด 5 กลุ่มๆ ละ 25 ตัว ทำ 2 ซ้ำ ให้อาหารที่เตรียมไว้โดยจะให้อาหารเท่ากับ 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวกุ้ง ให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน เวลา 9.00 และ 16.00 น. เป็นเวลา 2 สัปดาห์แล้วเก็บตัวอย่างกุ้ง 5 ตัวในแต่ละตู้ทุกสัปดาห์ เพื่อตรวจสอบต่อไปและในระหว่างการทดลองได้มีการตรวจสอบปริมาณแอมโมเนียและไนไตรท์เพื่อควบคุมไม่ให้มีปริมาณเกินมาตรฐาน

นำกุ้งขาวที่ผ่านการให้อาหารและเก็บตัวอย่างแล้ว มาทำให้ติดเชื้อไวรัส โดยการแช่กุ้งในไวรัสก่อโรคจุดขาวที่ระดับความเข้มข้นที่ทำให้กุ้งตาย (จากวิธีการทดลอง 3.2.1.2) เพื่อศึกษาอัตราการตาย

3.2.2.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของกุ้งขาวที่ได้รับอาหาร

ใช้เทคนิคไอออนลึกลง (ion leakage) ในการตรวจสอบผลของการทำลายเซลล์ โดยนำดับกุ้งมาเติมน้ำที่ไม่มีไอออน (DI water) จากนั้นนำไปวัดด้วยเครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้าของไอออน (Ion conductivity meter) แล้วนำไปนิ่งในเครื่องนิ่งอัดไอความดันสูงหรือดัมที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที แล้วนำมาวัดอีกครั้ง โดยใช้เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้าของไอออน (Ion conductivity meter) แล้วนำค่าที่วัดได้ทั้งสองครั้งมาเปรียบเทียบกัน โดยนำไปคำนวณในสูตร

$$\text{ร้อยละของปริมาณไอออนที่ปล่อยออกมาจากเซลล์} = [(I_a/I_b)_{\text{treatment}} / (I_a/I_b)_{\text{control}}] \times 100$$

กำหนดให้ I_a = ปริมาณไอออนที่ปล่อยออกมาจากเซลล์ก่อนต้ม

I_b = ปริมาณไอออนที่ปล่อยออกมาจากเซลล์หลังต้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวัดความยาวและน้ำหนักของกุ้งขาว โดยจะวัดขนาดและชั่งน้ำหนักของกุ้งทั้งก่อนและหลังจากเลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมสารสกัด

3.2.3 การศึกษาระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารเปรียบเทียบกับอาหารผสมสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นเขียด

การเตรียมตัวอย่างเลือด

ใช้กระบอกฉีดยาดูดสารละลายโซเดียมซีเตรต 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แล้วดูดเลือดกุ้ง โดยให้มีปริมาตรของเลือดกุ้งเป็น 1:1 ใส่ในหลอดทดลองเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.2.3.1 การนับปริมาณเม็ดเลือดทั้งหมด (Total Haemocyte Count)

นำตัวอย่างเลือดที่ได้มานับปริมาณเม็ดเลือดทันที โดยใช้สไลด์นับเม็ดเลือดภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง การหาค่าปริมาณเม็ดเลือดรวม (THC) และปริมาณเม็ดเลือดแต่ละชนิด (DHC) โดยดูดเลือดกุ้งบริเวณแอ่งเลือดที่อยู่ระหว่างรอยต่อของหัวกับอกมา 100 ไมโครลิตร ด้วยหลอดฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร หัวเข็ม 25G ภายในมีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดบรรจุอยู่ 0.9 มิลลิลิตร จากนั้นแบ่งเลือดออกเป็นสองส่วน ส่วนที่หนึ่งหยดเลือดหนึ่งหยดปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบน haemocytometer เพื่อนับปริมาณเม็ดเลือดรวม และแยกชนิดเม็ดเลือดไฮยาลิน (hyaline), เซมิกรานูลาร์ (semi-granular) และกรานูลาร์ (granular) พร้อมนับจำนวนเม็ดเลือดแต่ละชนิด ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบหัวกลับ ส่วนเลือดที่เหลือนำไปใช้ทดสอบพารามิเตอร์อื่น

3.2.3.2 Phophenoloxidase activity system

นำตัวอย่างเลือดที่เก็บไว้มา 20 ไมโครลิตร ผสมกับ CAC buffer 30 ไมโครลิตร ลงใน microplate 96 หลุม เติม trypsin 1 เปอร์เซ็นต์ 50 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นใส่ CAC buffer 130 ไมโครลิตร เติม 5 mM L-3, 4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) 50 ไมโครลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ทุกๆ 3 นาที 10 ครั้ง

3.2.3.3 การหาปริมาณโปรตีน

นำตัวอย่างเลือดที่เก็บไว้มา 160 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำยาทดสอบโปรตีนสำเร็จรูป 40 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ภายในเวลา 1 ชั่วโมง

แอกติวิตีของฟีนอลออกซิเดส 1 หน่วย คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร เปลี่ยนแปลงไป 0.001 ต่อนาทีต่อมิลลิกรัมของโปรตีน

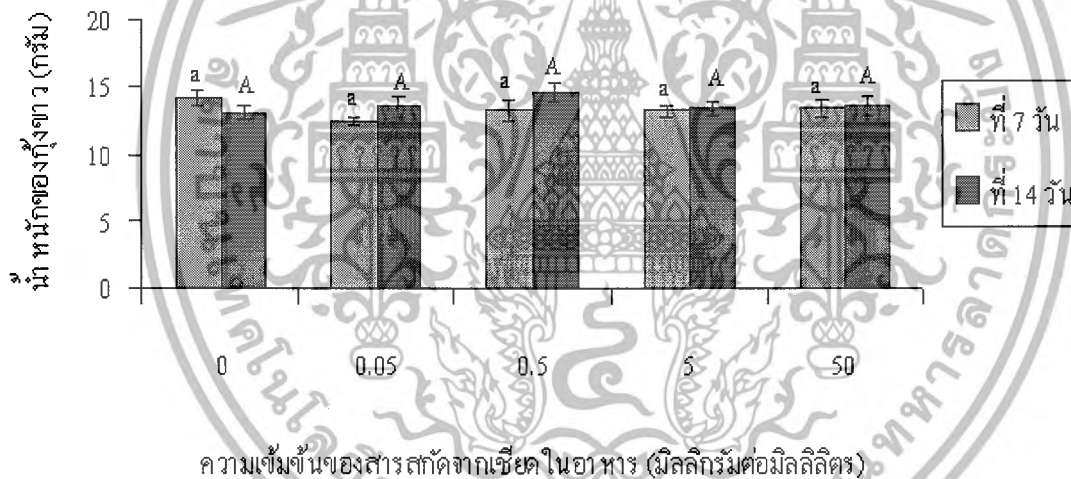
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

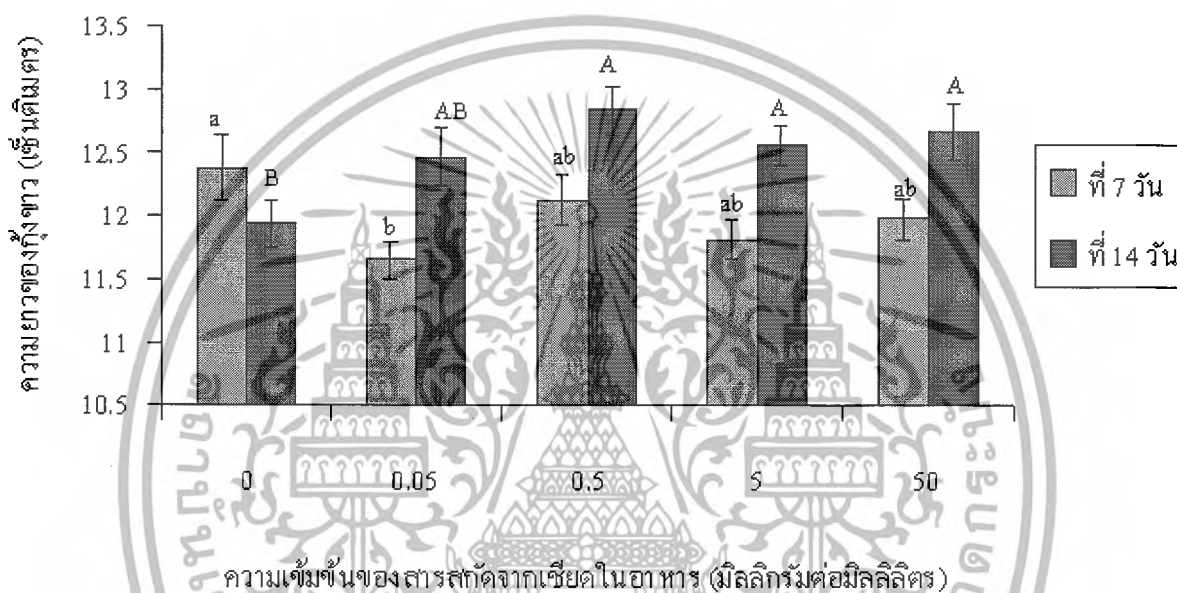
4.1 การเจริญเติบโตของกุ้งขาว

ผลการทดลองการเลี้ยงกุ้งขาวด้วยอาหารเสริมสารสกัดเห็ดที่ความเข้มข้น 0, 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิตรเป็นเวลา 14 วัน พบว่า น้ำหนักของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดเห็ดที่ความเข้มข้น 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิตรที่เวลา 7 วัน มีน้ำหนักไม่แตกต่างจากชุดควบคุมและไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละความเข้มข้น ที่ระยะเวลา 14 วัน กุ้งที่ได้รับอาหารเสริมเห็ดแต่ละความเข้มข้นมีน้ำหนักไม่แตกต่างกันในแต่ละความเข้มข้น ซึ่งน้ำหนักของกุ้งขาวที่ 7 และ 14 วัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แสดงว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดเห็ดที่ความเข้มข้นต่างๆ มีอัตราการเจริญเติบโตเป็นปกติ



รูปที่ 4.1 น้ำหนักของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากเห็ดที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร เป็นเวลา 7 และ 14 วัน กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติและตัวอักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ระยะเวลาเดียวกัน

ผลการทดลองการเลี้ยงกุ้งขาวด้วยอาหารเสริมสารสกัดเห็ดที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 14 วัน ต่ออัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขาว พบว่า ที่ 7 วัน กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดเห็ดที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีความยาวลดลงจากชุดควบคุม แต่ที่ความเข้มข้น 0.5-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรความยาวของกุ้งไม่แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม ที่ระยะเวลา 14 วัน กุ้งที่ได้รับอาหารเสริมเห็ดที่ความเข้มข้น 0.5-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความยาวของตัวกุ้งเพิ่มขึ้น โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติ และที่ 14 วัน กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดเห็ดทุกความเข้มข้นมีความยาวเพิ่มขึ้นจาก 7 วัน อย่างมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ยกเว้นชุดควบคุม

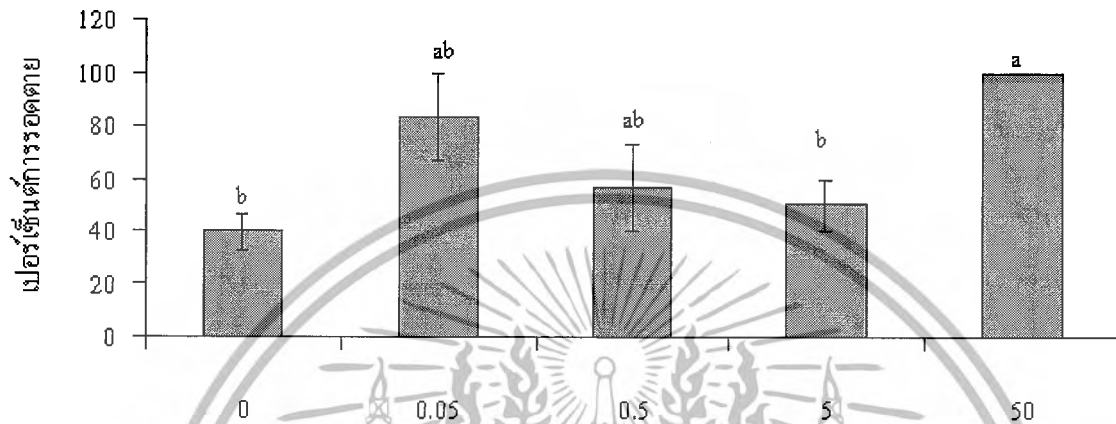


รูปที่ 4.2 ความยาวของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากเห็ดที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 7 และ 14 วัน กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติและตัวอักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่ระยะเวลาเดียวกัน

4.2 ผลการศึกษาอัตราการรอดของกุ้งขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาอัตราการรอดของกุ้งขาวที่เลี้ยงในอาหารกุ้งที่เสริมสารสกัดจากต้นเชียดที่ความเข้มข้น 0, 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่า กุ้งขาวมีอัตราการรอดเท่ากับ 40 ± 6.67 , 83.33 ± 16.66 , 56.67 ± 16.66 , 50 ± 10.00 และ 100 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และในทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P < 0.05$)



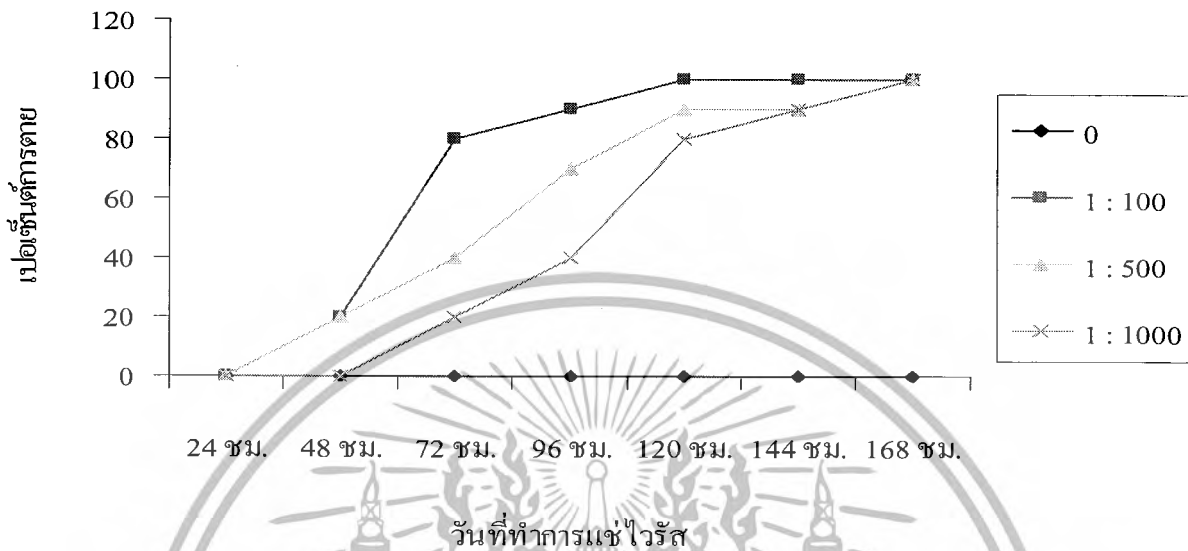
ความเข้มข้นของสารสกัดเชียดในอาหารกุ้ง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

รูปที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การรอดตายของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากเชียดที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 14 วัน กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติและตัวอักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่ระยะเวลาเดียวกัน

4.3 ผลการหาปริมาณต่ำสุดของไวรัสก่อโรคจุดขาวที่ทำให้กุ้งตาย

จากการทดสอบกุ้งขาวต่อไวรัสก่อโรคจุดขาวที่อัตราส่วน 0, 1:100, 1:500 และ 1:1000 พบว่า ที่ 168 ชั่วโมง กุ้งขาวมีอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ในทุกชุดการทดลอง ยกเว้นชุดควบคุมที่ไม่มีการตาย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของกุ้งขาว โดยที่ 96 ชั่วโมง ที่อัตราส่วน 1:500 กุ้งขาวตาย 70 เปอร์เซ็นต์ และที่อัตราส่วน 1:100 กุ้งขาวตาย 90 เปอร์เซ็นต์

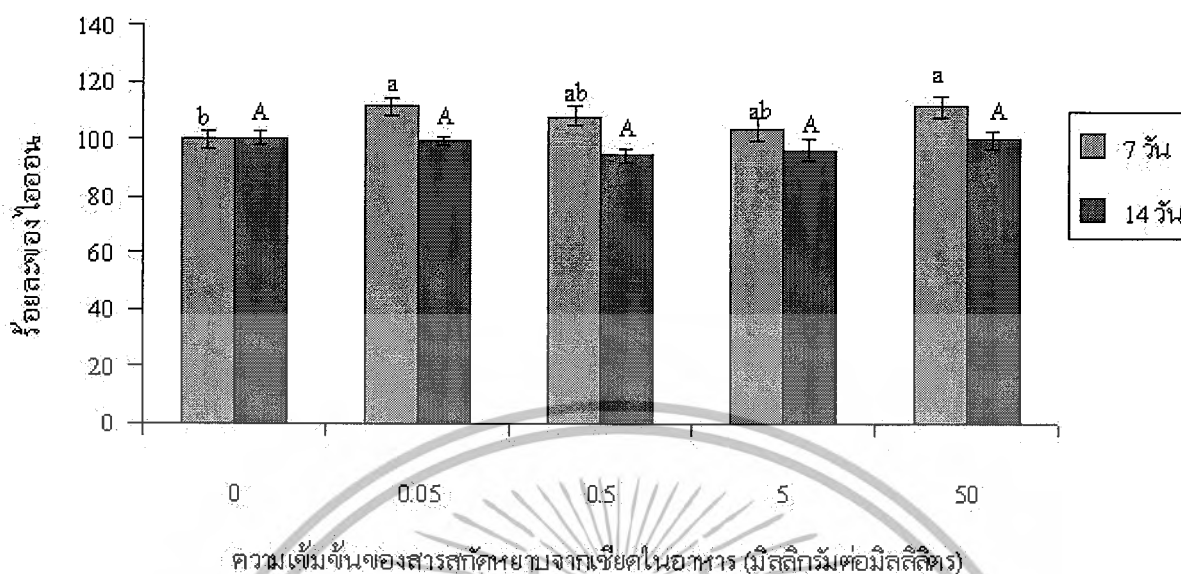


รูปที่ 4.4 อัตราการตายของกุ้งขาวเมื่อได้รับไวรัสก่อโรคกุ้งขาวที่อัตราส่วนต่างๆ กัน เป็นเวลา 168 ชั่วโมง

4.4 ผลของสารสกัดเชื้อต่อปริมาณเซลล์ที่ถูกทำลาย

จากการทดสอบผลของการทำลายเซลล์โดยพิจารณาจากปริมาณ ไอออนที่ปล่อยออกมาจากเซลล์หลังจากเลี้ยงด้วยอาหารเสริมสารสกัดเชื้อที่ความเข้มข้น 0, 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ที่ 7 วัน ร้อยละของ ไอออนที่ปล่อยออกมาจากเซลล์ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดเชื้อทุกความเข้มข้นมีค่าสูงกว่าชุดควบคุม โดยกลุ่มที่ให้อาหารเสริมสารสกัดเชื้อที่ความเข้มข้น 0.05 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละของ ไอออนที่ปล่อยออกมาจากเซลล์สูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่ 14 วัน ร้อยละของ ไอออนที่ปล่อยออกมาจากเซลล์ของกุ้งขาวที่ได้รับสารสกัดเชื้อทุกความเข้มข้นมีค่าใกล้เคียงกับชุดควบคุม ณ เวลาเดียวกัน ที่ 14 วัน ร้อยละของ ไอออนที่ปล่อยออกมาจากเซลล์ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดเชื้อที่ความเข้มข้น 0.05, 0.5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าลดลงจากวันที่ 7 อย่างมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 ปริมาณเซลล์ถูกทำลายในกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากเห็ดที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 7 และ 14 วัน กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติและตัวอักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่ระยะเวลาเดียวกัน

4.5 ผลของสารสกัดเห็ดต่อปริมาณเม็ดเลือดรวมในกุ้งขาว

จากการทดลองการตรวจนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดในน้ำเลือดกุ้งขาว ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสารสกัดเห็ดความเข้มข้น 0, 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นาน 14 วัน พบว่า ปริมาณเม็ดเลือดรวม, เซลล์เม็ดเลือดไฮยาไลน์, เซมิกรานูลาร์ และกรานูลาร์ ในกุ้งที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดเห็ดในทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งชุดควบคุมจะมีเซลล์เม็ดเลือดไฮยาไลน์ มีปริมาณ $8.89 \pm 1.24 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรคิดเป็นร้อยละ 55.87 ± 2.83 จากปริมาณเม็ดเลือดรวม ส่วนเซลล์เม็ดเลือดเซมิกรานูลาร์มีปริมาณ $4.21 \pm 0.47 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรคิดเป็นร้อยละ 26.53 ± 1.89 จากปริมาณเม็ดเลือดรวม ขณะที่เซลล์เม็ดเลือดกรานูลาร์มีปริมาณ $2.74 \pm 0.37 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรคิดเป็นร้อยละ 17.60 ± 1.21 จากปริมาณเม็ดเลือดรวม ซึ่งปริมาณเม็ดเลือดรวมเท่ากับ $15.64 \pm 1.89 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และจำนวนเซลล์เม็ดเลือดในน้ำเลือดกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสารสกัดเห็ดความเข้มข้น 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีจำนวนเซลล์เม็ดเลือดไฮยาไลน์มีปริมาณ 7.70 ± 1.19 - $10.89 \pm 4.33 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรคิดเป็นร้อยละ 46.64 ± 1.98 - 52.59 ± 2.97 จากปริมาณเม็ดเลือดรวม ส่วนเซลล์เม็ดเลือดเซมิกรานูลาร์ มีปริมาณ 3.69 ± 0.60 - $6.99 \pm 2.60 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรคิดเป็นร้อยละ 26.45 ± 1.78 - 30.33 ± 1.83 จากปริมาณเม็ดเลือดรวม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขณะที่เซลล์เม็ดเลือดกรานูลาร์มีปริมาณ $3.11 \pm 0.66 - 4.74 \pm 1.86 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรคิดเป็นร้อยละ $20.19 \pm 2.96 - 23.20 \pm 1.23$ จากปริมาณเม็ดเลือดรวม ซึ่งปริมาณเม็ดเลือดรวมเท่ากับ $14.50 \pm 2.23 - 22.62 \pm 8.69 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดเชียดที่ความเข้มข้น 0.05, 0.5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม, เซลล์เม็ดเลือดเซมิกรานูลาร์ และเซลล์เม็ดเลือดกรานูลาร์เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบจากชุดควบคุมแต่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 ปริมาณเม็ดเลือดรวม, เซลล์เม็ดเลือดไฮยาไลน์, เซมิกรานูลาร์ และกรานูลาร์ ในกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากเชียดที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 14 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ไฮยาไลน์ (1×10^7)	เซมิกรานูลาร์ (1×10^7)	กรานูลาร์ (1×10^7)	ปริมาณเม็ดเลือดรวม (1×10^7)
0	8.89 ± 1.24^a	4.21 ± 0.47^a	2.74 ± 0.37^a	15.64 ± 1.89^a
0.05	8.74 ± 2.91^a	4.26 ± 1.19^a	3.83 ± 1.27^a	16.83 ± 5.32^a
0.5	8.06 ± 1.46^a	5.02 ± 0.88^a	3.95 ± 0.78^a	17.02 ± 2.98^a
5	10.89 ± 4.33^a	6.99 ± 2.60^a	4.74 ± 1.86^a	22.62 ± 8.69^a
50	7.70 ± 1.19^a	3.69 ± 0.60^a	3.11 ± 0.66^a	14.50 ± 2.23^a

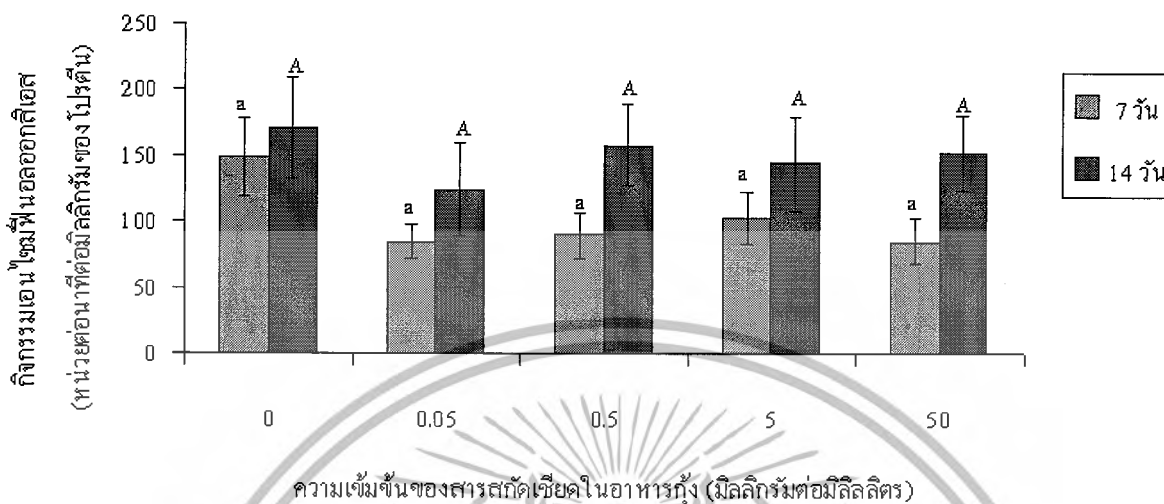
กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ตัวอักษรต่างกัน ในสดมภ์เดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.6 ผลของสารสกัดเชียดต่อปริมาณแอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสในกุ้งขาว

จากการทดลองการเลี้ยงกุ้งขาวด้วยอาหารเสริมสารสกัดเชียดที่ความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 14 วัน ที่ 7 วัน พบว่าในน้ำเลือดกุ้งขาวกิจกรรมของแอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสมีเท่ากับ 148.41 ± 30.49 , 84.81 ± 13.49 , 89.43 ± 17.31 , 103.29 ± 19.39 และ 85.17 ± 17.94 หน่วยต่อนาทีต่อมิลลิกรัมของโปรตีน ตามลำดับ ในทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$) และที่ 14 วัน มีกิจกรรมของแอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสในน้ำเลือดของกุ้งขาว เท่ากับ 170.57 ± 37.55 , 123.55 ± 35.33 , 158.03 ± 30.95 , 144.48 ± 35.85 และ 152.52 ± 28.62 หน่วยต่อนาทีต่อมิลลิกรัมของโปรตีน ตามลำดับ ในทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยกิจกรรมของแอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสที่ 14 วันเพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

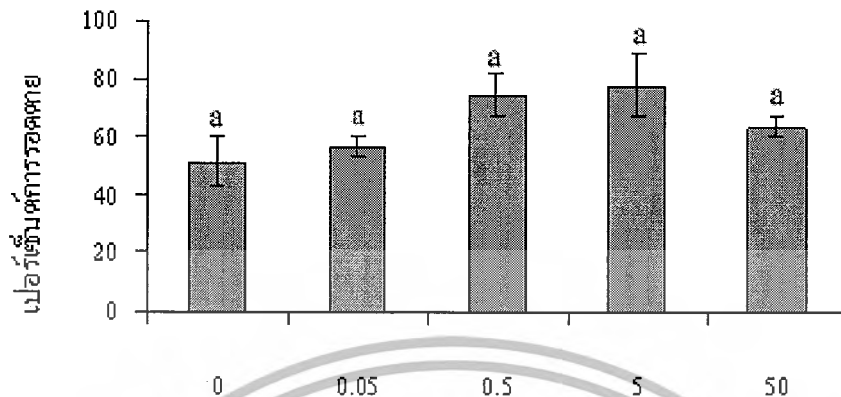
จากกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสที่ 7 วันและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 4.6 กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (หน่วยต่ออนาที่ต่อมิลลิกรัมของโปรตีน) ของกุ้งที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากเชื้อดื่ระดับความเข้มข้น 0, 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 14 วัน กำหนดให้ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และตัวอักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่ระยะเวลาเดียวกัน

4.7 ผลการศึกษาอัตราการรอดตายของกุ้งขาวเมื่อได้รับไวรัสก่อโรคจุดขาว

ผลจากการศึกษาในข้อ 4.1 พบว่า ค่าความเข้มข้นของไวรัสก่อโรคจุดขาวที่เหมาะสมที่ทำให้กุ้งตายใกล้เคียง 50 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 4 คือ ไวรัสก่อโรคจุดขาวที่อัตราส่วน 1:500 จึงนำไวรัสก่อโรคจุดขาวที่อัตราส่วนดังกล่าวมาทำให้ติดโรคในกุ้งขาว หลังจากเลี้ยงด้วยอาหารเสริมสารสกัดเชื้อดื่ความเข้มข้น 0, 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 14 วัน พบว่า เมื่อให้กุ้งขาวติดโรคเป็นเวลา 4 วัน กุ้งขาวมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายเท่ากับ 51.42 ± 8.57 , 56.67 ± 3.33 , 74.24 ± 7.57 , 77.78 ± 11.11 และ 63.33 ± 3.33 ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)



ความเข้มข้นของสารสกัดหยาดจากเขียดในอาหารกุ้ง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

รูปที่ 4.7 เปอร์เซ็นต์การรอดตายของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากเขียดที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 14 วัน เมื่อได้รับไวรัสก่อโรคกุ้งขาวที่อัตราส่วน 1 : 500 เป็นเวลา 96 ชั่วโมง กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และ ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่ระยะเวลาเดียวกัน

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของกุ้งขาวโดยให้สารสกัดจากเชื้อดื้อยาความเข้มข้น 0, 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 14 วัน พบว่า สารสกัดจากเชื้อดื้อยาไม่เป็นพิษต่อกุ้งขาวและมีแนวโน้มให้น้ำหนัก ความยาวของตัวกุ้งและอัตราการรอดตายเพิ่มขึ้น ถึงแม้ว่าการทดลองครั้งนี้ พบว่า กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดยับยั้งจากเชื้อดื้อยาความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 14 วัน มีการเจริญเติบโตของกุ้งขาวไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจนทางสถิติ คาดว่าอาจเกิดเนื่องจากระยะเวลาการใช้สารสกัดยับยั้งจากเชื้อดื้อยาในการเลี้ยงกุ้งน้อยเกินไปเพียง 2 สัปดาห์ ในขณะที่งานวิจัยอื่นๆ ในการเลี้ยงกุ้งขาวด้วยอาหารที่เคลือบสกัดจากต้นพรหมที่มีความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 ppm เป็นเวลา 2 เดือน พบว่ากุ้งขาวมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น (โสมสดาและคณะ, 2550) เช่นเดียวกับในกุ้งกุลาดำ *P. monodon* ที่ได้รับอาหารเสริม peptidoglycan ที่สกัดจาก *Brevibacterium lactofermentum* ที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารเสริม peptidoglycan มีการเจริญเติบโตสูงกว่ากุ้งที่ไม่ได้รับอาหารเสริม peptidoglycan (Hall., 1984; Lanz และคณะ., 1993) และในการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดยับยั้งจากใบมะม่วงเขียวเสวยที่ความเข้มข้น 2,500 และ 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร วันละ 2 ครั้ง นาน 7 วัน มีอัตราการรอดตายสูงแสดงว่าการให้สารสกัดยับยั้งจากใบมะม่วงเขียวเสวยที่ความเข้มข้น 2,500 และ 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตรไม่เป็นพิษต่อกุ้งกุลาดำ (ชลิดา และคณะ, 2542)

การศึกษาปริมาณไอออนที่ปล่อยออกมาจากเซลล์ กล่าวคือ ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตจะมีการแลกเปลี่ยนไอออนอยู่แล้ว แต่เมื่อเซลล์เกิดการผิดปกติหรือถูกทำลายด้วยสิ่งแปลกปลอมจะทำให้มีปริมาณไอออนหลุดออกมาภายนอกเซลล์มากกว่าที่ควรจะเป็นซึ่งตรวจสอบได้โดยการวัดปริมาณไอออนที่หลุดออกมา สารสกัดจากเชื้อดื้อยามีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ หน้าที่ของสารต้านอนุมูลอิสระคือจะเข้าไปจับกับสารที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบและไวต่อการทำปฏิกิริยา (ROS, Reactive Oxygen Species) เพื่อป้องกันไม่ให้เซลล์ถูกทำลาย จากการทดลองเพื่อตรวจสอบดูปริมาณไอออนของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดยับยั้งจากเชื้อดื้อยาที่ระดับความเข้มข้น 0.05, 0.5, 5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 14 วัน โดยใช้เทคนิค ion leakage ครั้งนี้พบว่าปริมาณไอออนที่ปล่อยออกมาจากเซลล์ในกุ้งขาว ที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดยับยั้งจากเชื้อดื้อยาในทุกระดับความเข้มข้นที่เวลา 14 วัน ลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม แสดงว่า การให้สารสกัดยับยั้งจากเชื้อดื้อยาในอาหารของกุ้งขาวในปริมาณการได้รับและระยะเวลาที่แตกต่างกัน มีผลให้กุ้งขาวมีปริมาณไอออนที่ปล่อยออกจากเซลล์มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการให้สารสกัดนานขึ้น ดังนั้นสารสกัดจากเชื้อดื้อยาดังกล่าวจึงน่าจะมีผลในการรักษา

สภาพเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาครั้งนี้ กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดหยาบจากเชื้อดที่ระดับความเข้มข้น 0.05, 0.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 14 วัน สามารถเพิ่มจำนวนปริมาณเม็ดเลือดรวม และเซลล์เม็ดเลือดไฮยาลิน, เซมิกรานูลาร์ และกรานูลาร์ ซึ่งเซลล์เม็ดเลือดทั้ง 3 ชนิดจะมีหน้าที่ในการทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่เซลล์ โดยเฉพาะเซลล์เม็ดเลือดเซมิกรานูลาร์และกรานูลาร์จะทำหน้าที่ในการกลืนทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่เซลล์ และในการทดลองนี้สามารถเพิ่มปริมาณเซลล์เม็ดเลือดเหล่านี้ได้ในกุ้งขาว แสดงว่า การใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อดในปริมาณการได้รับที่แตกต่างกัน มีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดรวม และเซลล์เม็ดเลือดไฮยาลิน, เซมิกรานูลาร์ และ กรานูลาร์ในกุ้งขาว

กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดหยาบจากเชื้อด พบว่า ปริมาณกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสมีแนวโน้มลดลงในทุกความเข้มข้นและต่ำกว่าชุดควบคุมที่ 7 วันแต่ปริมาณกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในวันที่ 14 ในทุกความเข้มข้น แสดงว่าการใช้สารสกัดหยาบจากเชื้อดน่าจะมีผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันถ้าได้รับปริมาณสารและระยะเวลาที่เหมาะสมและจะส่งผลกระทบต่ออัตราการรอดตายของกุ้งเมื่อได้รับไวรัส เช่นเดียวกับงานวิจัยอื่นๆที่พบว่าการใช้สารสกัดจากพืชหลายชนิด เช่น พญาขอ (*Clinacanthus nutans*), ฝรั่ง (*Psidium guajava*), ก้างปลาเครือ (*Phyllanthus reticulatus*), มะยม (*Phyllanthus acituis*), ธรณีสาร (*Phyllanthus pulcher*), ลูกใต้ใบ 2 ชนิด ได้แก่ *Phyllanthus amarus*, *Phyllanthus debelis* และหญ้าใต้ใบ (*Phyllanthus irinaria*) (สถาพรและคณะ, 2540) มีแนวโน้มเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันและมีผลให้กุ้งทนต่อไวรัสได้ดียิ่งขึ้น

สรุปการศึกษาในครั้งนี้ พบว่า กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดหยาบจากเชื้อดในช่วงความเข้มข้น 0.05-5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 14 วัน มีอัตราการรอด, ปริมาณเม็ดเลือดรวม, เซลล์เม็ดเลือดไฮยาลิน (hyaline), เซมิกรานูลาร์ (semi-granular) และ กรานูลาร์ (granular) เพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุม แสดงว่า สารสกัดหยาบจากเชื้อดไม่เป็นพิษต่อกุ้งขาวและสามารถเพิ่มการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โดยการเพิ่มปริมาณเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่างๆที่ทำหน้าที่ในการกลืนทำลายสิ่งแปลกปลอม ส่วนปริมาณไอออนที่ถูกปล่อยออกมาจากเซลล์มีแนวโน้มลดลง แสดงว่า สกัดหยาบจากเชื้อดมีฤทธิ์ช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับกุ้งขาว และกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ดังนั้น การเสริมสารสกัดหยาบจากเชื้อดในอาหารสามารถกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันได้เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป แต่ควรเพิ่มระยะเวลาในการให้อาหารแก่กุ้งนานขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- กองกานดา ชยามฤต. 2540. **สมุนไพรไทยตอนที่ 6**. บริษัท ไคมอนด์ พรินต์ติ้ง, กรุงเทพฯ. 175 น.
- กิจการ สุภมาตย์. 2543. มารู้อัจระบบภูมิคุ้มกันโรคของกึ่งกันเถอะ. **วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี** 22. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <http://www.kungthai.com/Immune.html>. (วันที่ค้นข้อมูล : 20 กันยายน 2551).
- จิราพร เกสรจันทร์. 2538. ไวรัสรูปแท่งสาเหตุของโรคตัวแดงดวงขาวในกึ่งกูดาค้า. **เอกสารวิชาการฉบับที่ 2538 (3)**, สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา. 11 น.
- ชลิตา ชมานนท์ และคณะ. 2540. การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากใบมะม่วงต่อเชื้อไวรัสหัวเหลืองและเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในกึ่งกูดาค้า. **รายงานการวิจัยทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี 2540**. สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 73 น.
- ชลิตา ชมานนท์และคณะ. 2542. การศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากใบมะม่วงเขียวเสวยต่อระบบภูมิคุ้มกันในกึ่งกูดาค้า. **ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 37**. สาขาประมง สาขาการจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม. 233-239 น.
- ชลอ ลิมสุวรรณ. 2551. ประสิทธิภาพของอควานิน พลัส (Beta - Cyclodextrin Cysteamine Hydrochloride) ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดและระบบภูมิคุ้มกันในกึ่งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*). **วารสารสัตว์น้ำ**. 228 : 71-79
- ชลอ ลิมสุวรรณ. 2551. ประสิทธิภาพของอควานิน พลัส (Beta - Cyclodextrin Cysteamine Hydrochloride) ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดและระบบภูมิคุ้มกันในกึ่งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*). **วารสารสัตว์น้ำ**. 229 : 97-100
- ทีมงานสัตว์น้ำเศรษฐกิจ. 2546. **7 สัตว์น้ำเด่นที่นำลงทุน**. สำนักพิมพ์สาระสร้างสรรค์, นนทบุรี. 136 น.
- พรรณี เคนรุ่งเรือง. 2550. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเปลือกต้นวงศ์อบเชย (Lauraceae), **ในรายงานผลงานวิจัย ประจำปี พ.ศ.2550**. สำนักวิจัยการจัดการป่าไม้และผลิตผลป่าไม้, กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ. 19-26 น.
- พรเลิศ จันทร์รัชกุลและคณะ. 2541. ผลของ β - 1, 3 glucan ต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (Immune response) ของกึ่งกูดาค้า. **ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36**. 43-50 น.
- ภิญโญ เกียรติภิญโญ. 2545. **วิธีปฏิบัติสำหรับการเลี้ยงกึ่งขาว แอล. เวนาไม**. เมืองเกษตรแมกกาซีน จำกัด, สมุทรปราการ. 120 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2540. พืชเครื่องเทศและสมุนไพร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 200 น.

สถาพร ดิเรกบุษราคมและคณะ. 2540. ฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรบางชนิดต่อเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรค ตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำ. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35. 145-150 น.

สุมลรัตน์ กระพี้แดง. 2549. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบสมุนไพรต่อการยับยั้งการเติบโตของเชื้อไวรัสโอในกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

_____. 2548. การเสริม Sodium alginate ในอาหารเพื่อเพิ่มภูมิคุ้มกันในกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* และความต้านทานการติดเชื้อ *Vibrio alginolyticus*. แปลจาก Fish&Shellfish Immunology 18 (2005) 1-12. (จุลวรรณ รุ่งกานเนตวงศ์). กรุงเทพฯ : สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำชายฝั่ง.

_____. โรคตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <http://micro.sci.ku.ac.th/fscicvk/sembv.htm>. (วันที่ค้นข้อมูล : 15 กันยายน 2551).

_____. Cinnamaldehyde. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <http://en.wikipedia.org/wiki/Cinnamaldehyde> (วันที่ค้นข้อมูล : 15 มีนาคม 2552)

_____. Cinnamic acid. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก http://en.wikipedia.org/wiki/Cinnamic_acid (วันที่ ค้นข้อมูล : 15 มีนาคม 2552).

_____. Coumarin. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <http://en.wikipedia.org/wiki/Coumarin> (วันที่ค้นข้อมูล : 15 มีนาคม 2552).

_____. Eugenol. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <http://en.wikipedia.org/wiki/Eugenol> (วันที่ค้นข้อมูล : 15 มีนาคม 2552).

Alzoreky, N.S. and K. Nakahara. 2003. Antimicrobial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. **Int. J. Food Microb.** 80 :223-230.

Bo-Kun Su, Jiann-Chu Chen.2007. Effect of saponin immersion on enhancement of the immuneresponse of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. **Fish&Shellfish Immunology** 24 : 74-81.

Chiu, C H., Guu, Y K., Liu, C H., Pan, T M. and Cheng, W. 2007. Immune responses and gene expression in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, induced by *Lactobacillus plantarum*. **Fish&Shellfish Immunology**. 23 : 364-377.

Liu, C H., Tseng, M C. and Cheng, W. 2007. Identification and cloning of the antioxidant enzyme, glutathione peroxidase, of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, and its expression following *Vibrio alginolyticus* infection. **Fish&Shellfish Immunology**. 23 : 34-45.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Lee, H S. 2002. Inhibitory activity of *Cinnamomum cassia* bark-derived component against rat lens aldose reductase. **J Pharm Pharmaceut Sci.** 5(3) : 226-230.
- Si-Wei Hsu, Jiann-Chu Chen. 2007. The immune response of white shrimp *Penaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* under sulfide stress. **Aquaculture.** 271 : 61–69.
- Traisresin, C. 2002. Phenoloxidase related immune response in black tiger prawn *Penaeus monodon*. **Thesis (M.Sc.) Biotechnology.** Chulalongkorn University.
- Witon Cheng and Jiann-Chu Chen. 2000. Effects of pH, temperature and salinity on immune parameters of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Fish & Shellfish Immunology.** 10 : 387–391.
- Winton Cheng et al. 2002. Effect of hypoxia on the immune response of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* and its susceptibility to pathogen *Enterococcus*. **Fish & Shellfish Immunology.** 13 : 351–365.
- Winton Cheng, Su-Mei Chen, Feng-I Wang, Pei-I Hsu, Chun-Hung Liub, Jiann-Chu Chen. 2003. Effects of temperature, pH, salinity and ammonia on the phagocytic activity and clearance efficiency of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* to *Lactococcus garvieae*. **Aquaculture** 219 : 111-121.
- Winton Cheng et al., 2005. Effects of dopamine on the immunity of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology** 19 : 375-385.

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารกุ้ง

โดยการผสมสารสกัดที่ได้จากเปลือกกุ้งแช่แข็งมาผสมกับอาหารสำเร็จรูป โดยกำหนดระดับความความเจือจางเป็น 0 , 1 , 10 , 100 , 1000 เท่า โดยที่

ความเจือจาง 0 เท่า : เป็นชุดควบคุมที่ไม่มีการปนสารสกัดหยาบจากเปลือกกุ้งแช่แข็ง

ความเจือจาง 1 เท่า : นำสารสกัดหยาบมา 2.5 กรัม ละลายในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 50 มิลลิลิตร

ความเจือจาง 10 เท่า : นำสารละลายจากความเจือจาง 1 เท่า มา 2 มิลลิลิตร ละลายในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 18 มิลลิลิตร

ความเจือจาง 100 เท่า : นำสารละลายจากความเจือจาง 10 เท่า มา 2 มิลลิลิตร ละลายในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 18 มิลลิลิตร

ความเจือจาง 1000 เท่า : นำสารละลายจากความเจือจาง 100 เท่า มา 2 มิลลิลิตร ละลายในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 18 มิลลิลิตร

จากนั้นเอาสารละลายของแต่ละความเจือจางมาความเจือจางละ 10 มิลลิลิตร ทำการปนสารสกัดหยาบลงบนอาหารสำเร็จรูปความเจือจางละ 500 กรัม หลังจากนั้นทิ้งให้แห้งแล้วเคลือบด้วยไขขาว

ภาคผนวก ข

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. สารละลายบัฟเฟอร์คาโคดีเลต (CAC buffer) พีเอช 7.3

โซเดียมคาโคดีเลต	10	mM
NaCl	450	mM
CaCl	10	mM
MgCl	26	mM

2. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (Phosphate Buffer Saline, PBS) พีเอช 7.4

NaCl	8.0	กรัม
KCl	0.2	กรัม
Na ₂ HPO	1.44	กรัม
KH ₂ PO ₄	0.24	กรัม

3. โบรไวน์ ซีรัม อัลบูมิน เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

โบรไวน์ ซีรัม อัลบูมิน	1	กรัม
------------------------	---	------

ละลายในสารละลาย PBS พีเอช 7.4 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4. สารละลายบัฟเฟอร์ TEN

Tris-HCl pH 8.5	50	mM
EDTA	5	mM
NaCl	400	mM

5. Trypsin 1%

ละลาย Trypsin 0.1 กรัมใน DI water 1 มิลลิลิตร

6. L-DOPA 5 mM

ละลาย L-3,4-dihydroxyphenylalanine 0.00098 กรัมใน CAC Buffer 1 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์น้ำ

การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้ง จะทำการเก็บตัวอย่างน้ำในตู้ทุกวัน โดยเก็บแยกในแต่ละตู้ ปริมาตรเท่ากับ 30 มิลลิลิตร แล้วนำไปแช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจสอบปริมาณแอมโมเนีย และไนไตรท์ระหว่างการทดลอง

2.1 การวิเคราะห์แอมโมเนีย

(1) Stock solution (ความเข้มข้น 100 mg-N/L)

นำ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.4717 กรัม มาละลายในน้ำ DI แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร

(2) Standard (ความเข้มข้น 0.50 mg-N/L)

นำ Stock solution (ความเข้มข้น 100 mg-N/L) 0.50 มิลลิลิตร มาปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ น้ำ DI

(3) Standard concentration 0.01, 0.05, 0.10, 0.50, 1.0 mg-N/L

(3.1) ความเข้มข้นที่ 0.01 mg-N/L ทำได้โดยนำ Standard มา 1.0 มิลลิลิตร มาปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ น้ำ DI

(3.2) ความเข้มข้นที่ 0.05 mg-N/L ทำได้โดยนำ Standard มา 5.0 มิลลิลิตร มาปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ น้ำ DI

(3.3) ความเข้มข้นที่ 0.1 mg-N/L ทำได้โดยนำ Standard มา 10.0 มิลลิลิตร มาปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ น้ำ DI

(3.4) ความเข้มข้นที่ 0.5 mg-N/L ทำได้โดยนำ Stock solution มา 0.5 มิลลิลิตร มาปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ น้ำ DI

(3.5) ความเข้มข้นที่ 1.0 mg-N/L ทำได้โดยนำ Stock solution มา 1.0 มิลลิลิตร มาปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ น้ำ DI

(4) การเตรียมสารเคมี

(4.1) Phenol solution

ชั่ง Phenol 20 กรัม ละลายใน 95% v/v เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่ง Sodium nitroprusside ($\text{NO}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 1 กรัม มาละลายในน้ำ DI แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตร

(4.3) Oxidizing solution

ผสม Alkaline reagent กับ Sodium hypochloride Solution ในอัตราส่วน 100: 25 มิลลิลิตร

(4.4) Alkaline reagent

ชั่ง Sodium citrate 50 กรัม และ Sodium hydroxide 5 กรัม มาละลายในน้ำ DI แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 250 มิลลิลิตร

(5) วิธีการทดลอง

(5.1) ปิเปิดน้ำตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

(5.2) เติม Phenol 0.04 มิลลิลิตร

(5.3) เติม Sodium nitroprusside 0.04 มิลลิลิตร

(5.4) เติม Oxidizing reagent 0.1 มิลลิลิตร

(5.5) เขย่าด้วย vortex ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง

(5.6) วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร

2.2 การวิเคราะห์ไนไตรท์

(1) การเตรียมสารเคมี

(1.1) NNED solution

ชั่ง N-(1-Naphthyl)-Ethylenediamine Dihydrochloride 0.5 กรัม มาละลายในน้ำ DI แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร

(1.2) Sulphamind solution

ชั่ง Sulphanilamid 2.5 กรัม ผสมกับ กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร ใน น้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร

(2) วิธีการทดลอง

(2.1) ปิเปิดน้ำตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

(2.2) เติม NNED solution 0.02 มิลลิลิตร

(2.3) เติม Sulphamind solution 0.02 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2.4) เขย่าด้วย vortex

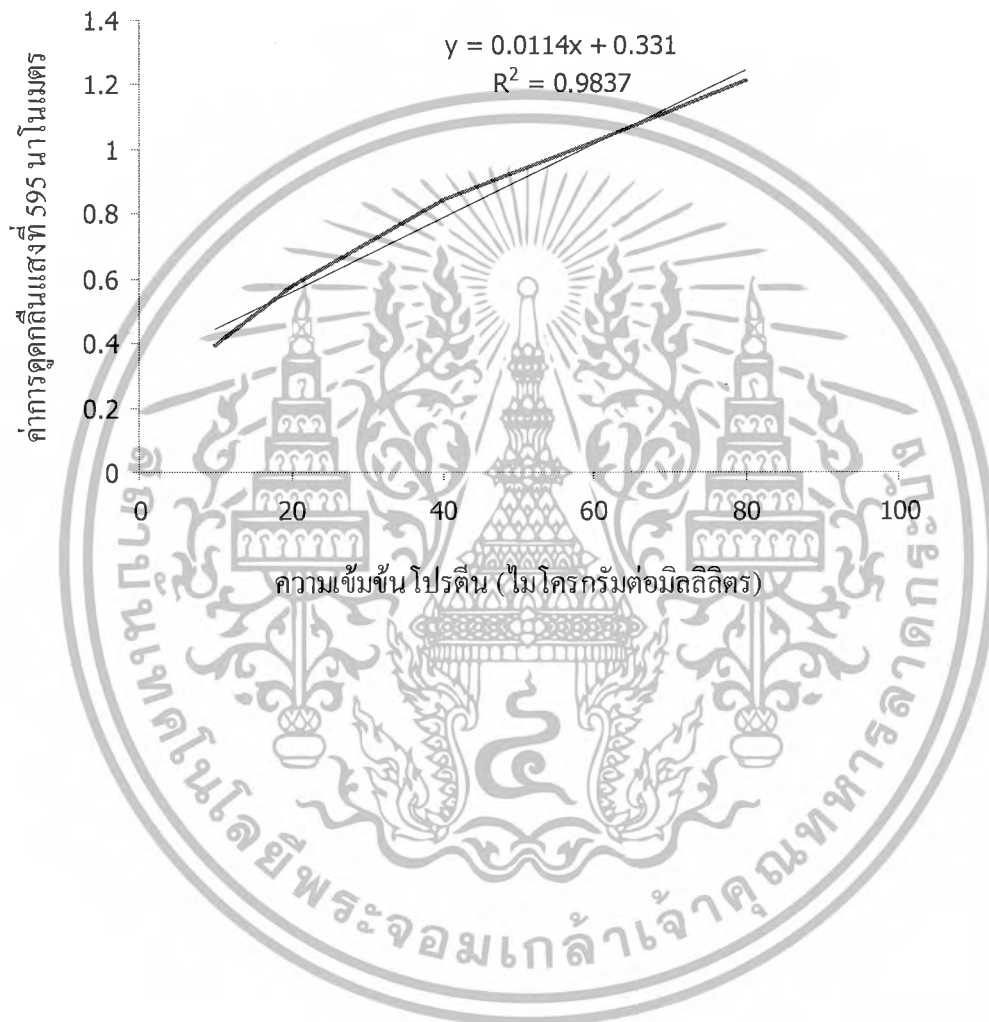
(2.5) วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

กราฟมาตรฐานโปรตีน (bovine serum albumin) โดยวิธี Bradford



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ตารางผนวกที่ จ1 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อดักต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวเป็นเวลา 7 วัน

ความเข้มข้น ของสารสกัด เชื้อที่ผสม อาหารสำเร็จรูป	จำนวน ทำซ้ำ	น้ำหนักของกุ้ง (กรัม)					ความยาวของกุ้ง (เซนติเมตร)				
		ตัวที่	ตัวที่	ตัวที่	ตัวที่	ตัวที่	ตัวที่	ตัวที่	ตัวที่	ตัวที่	ตัวที่
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
0 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	11.81	11.93	12.17	12.71	17.36	11	11.3	12	12.1	13.2
	ครั้งที่ 2	14.54	14.66	14.88	15.85	11.35	12.2	12.7	12.8	13	13.5
0.05 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	11.09	12.27	12.64	13.73	14.68	11.3	11.4	11.6	11.9	12.8
	ครั้งที่ 2	10.91	12.17	12.2	12.5	12.69	11.1	11.2	11.7	11.7	11.8
0.5 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	11.56	12.9	15.09	16.29	17.6	11.5	12.5	12.6	13	13.1
	ครั้งที่ 2	11.02	11.52	11.56	12.36	12.53	11.4	11.5	11.7	11.9	12
5 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	10.61	11.57	13.02	14.26	14.84	10.8	11.4	11.7	12.1	12.4
	ครั้งที่ 2	12.48	13.16	13.36	13.85	14.56	11.6	11.8	11.9	12	12.5
50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	11.08	11.16	12.87	13.37	15.72	11.2	11.2	12.1	12.2	12.6
	ครั้งที่ 2	11.16	13.43	14.77	14.93	15.23	11.5	12	12.2	12.3	12.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ ๑2 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อดักแด้ต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวเป็นเวลา 14 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อดักแด้ผสมอาหารสำเร็จรูป	จำนวนทำซ้ำ	น้ำหนักของกุ้ง (กรัม)					ความยาวของกุ้ง (เซนติเมตร)				
		ตัวที่ 1	ตัวที่ 2	ตัวที่ 3	ตัวที่ 4	ตัวที่ 5	ตัวที่ 1	ตัวที่ 2	ตัวที่ 3	ตัวที่ 4	ตัวที่ 5
0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	12.44	15.57	12.98	13.54	12.83	11.5	13.2	11.6	11.7	11.5
	ครั้งที่ 2	15.6	12.3	11.75	12.03	15.94	12.8	11.8	12	11.4	11.9
0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	14.29	12.25	11.98	16.66	9.46	13.5	12.1	11	12.5	12
	ครั้งที่ 2	13.65	16.47	12.42	15.44	12.84	13	12.3	13.4	12.6	12.3
0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	20.24	15.99	14.66	15.23	13.23	14.2	12.9	13.2	13.1	13
	ครั้งที่ 2	11.84	12.33	13.53	14.11	14.63	12.3	12.5	12.4	12	12.8
5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	13.72	14.8	14.4	11.51	15.04	12	13.3	12.9	12.9	12.8
	ครั้งที่ 2	12.68	13.42	15.19	12.17	10.73	12	12.7	12.4	12.9	11.8
50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	15.36	13.96	15.86	13.02	14.82	13.5	13	13	12.8	12
	ครั้งที่ 2	13.21	12.14	9.8	15.93	11.83	12.8	13.5	11.3	12.5	12.3

ตารางผนวกที่ ๑3 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อดักแด้ต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวที่วิเคราะห์แล้ว

ความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อดักแด้ผสมอาหารสำเร็จรูป	น้ำหนักของกุ้ง (กรัม)		ความยาวของกุ้ง (เซนติเมตร)	
	7 วัน	14 วัน	7 วัน	14 วัน
0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	14.19±0.61 ^a	13.61±0.55 ^A	12.38±0.26 ^a	11.94±0.19 ^B
0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	12.49±0.35 ^a	13.55±0.70 ^A	11.65±0.15 ^b	12.47±0.23 ^{AB}
0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	13.24±0.72 ^a	14.58±0.75 ^A	12.12±0.20 ^{ab}	12.84±0.19 ^A
5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	13.17±0.42 ^a	13.37±0.49 ^A	11.82±0.16 ^{ab}	12.57±0.16 ^A
50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	13.37±0.56 ^a	13.59±0.63 ^A	11.98±0.16 ^{ab}	12.67±0.21 ^A

*อักษรที่ต่างกันในสมมติเดียวกัน แสดงว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ จ4 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่ออัตราการรอดของกุ้งขาวเป็นเวลา 14 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัดเชียดที่ผสม อาหารสำเร็จรูป	จำนวนทำซ้ำ	จำนวนกุ้งเริ่มต้น	ปริมาณกุ้งที่รอด
0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	15	7
	ครั้งที่ 2	15	5
0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	15	15
	ครั้งที่ 2	15	10
0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	15	11
	ครั้งที่ 2	15	6
5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	15	6
	ครั้งที่ 2	15	9
50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	15	15
	ครั้งที่ 2	15	15

ตารางผนวกที่ จ5 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่ออัตราการรอดของกุ้งขาวที่วิเคราะห์แล้ว

ความเข้มข้นของสารสกัดเชียดที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	อัตราการรอดของกุ้งขาวที่ 14 วัน
0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	40.00±6.67 ^b
0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	83.33±16.67 ^{ab}
0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	56.67±16.67 ^{ab}
5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	50.00±10.00 ^b
50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	100.00±0.00 ^a

*อักษรที่ต่างกันในสมมติเดียวกัน แสดงว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ ๖ ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อดื้อปริมาณเซลล์ถูกทำลายเป็นเวลา 7 วัน

ความเข้มข้นของ สารสกัดเชื้อดื้อที่ ผสมอาหาร สำเร็จรูป	จำนวน ทำซ้ำ	ตัว ที่	ไอออนที่ปล่อยออกมาก่อนต้ม			ไอออนที่ปล่อยออกมาหลังต้ม		
			วัดครั้งที่	วัดครั้งที่	วัดครั้งที่	วัดครั้งที่	วัดครั้งที่	วัดครั้งที่
			1	2	3	1	2	3
0 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	381	382	383	533	508	505
		2	288	309	300	450	453	449
		3	372	382	369	555	530	537
		4	483	487	453	569	588	594
		5	342	348	347	465	488	494
	ครั้งที่ 2	1	412	413	426	636	617	571
		2	239	249	257	407	394	422
		3	314	309	311	509	490	532
		4	528	539	544	726	744	727
		5	365	373	372	535	564	582
0.05 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	334	354	333	402	373	410
		2	406	392	410	543	535	534
		3	436	456	420	576	596	573
		4	676	702	673	817	824	837
		5	749	732	728	914	899	928
	ครั้งที่ 2	1	348	358	350	542	562	550
		2	414	429	420	612	593	605
		3	610	596	623	731	733	788
		4	529	515	486	648	614	642
		5	439	420	447	593	576	544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ ๖ ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อต่อปริมาณเซลล์ถูกทำลายเป็นเวลา 7 วัน (ต่อ)

ความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	จำนวนทำซ้ำ	ตัวที่	ไอออนที่ปล่อยออกมาก่อนต้ม			ไอออนที่ปล่อยออกมาหลังต้ม		
			วัดครั้งที่	วัดครั้งที่	วัดครั้งที่	วัดครั้งที่	วัดครั้งที่	วัดครั้งที่
			1	2	3	ที่ 1	ที่ 2	ที่ 3
0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	496	455	470	595	592	601
		2	500	546	491	723	718	710
		3	486	501	490	674	679	668
		4	664	704	691	785	777	771
		5	331	328	334	501	510	510
	ครั้งที่ 2	1	755	759	791	939	914	917
		2	463	465	462	628	620	629
		3	482	484	478	679	671	676
		4	535	539	543	800	848	795
		5	407	410	409	554	547	533
5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	353	335	326	434	443	401
		2	374	377	394	587	577	526
		3	542	546	543	755	778	761
		4	469	466	462	797	806	795
		5	585	584	591	622	631	646
	ครั้งที่ 2	1	388	405	400	603	618	604
		2	435	451	418	620	666	663
		3	393	432	419	573	568	616
		4	423	431	454	699	664	707
		5	654	616	624	770	794	770

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ ๖ ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อดื้อปริมาณเซลล์ถูกทำลายเป็นเวลา 7 วัน (ต่อ)

ความเข้มข้นของ สารสกัดเชื้อดื้อที่ ผสมอาหาร สำเร็จรูป	จำนวน ทำซ้ำ	ตัวที่	ไอออนที่ปล่อยออกมาก่อน			ไอออนที่ปล่อยออกมาหลัง		
			ต้ม			ต้ม		
			วัดครั้งที่ ที่ 1	วัดครั้งที่ ที่ 2	วัดครั้งที่ ที่ 3	วัดครั้งที่ ที่ 1	วัดครั้งที่ ที่ 2	วัดครั้งที่ ที่ 3
50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	338	338	341	473	437	464
		2	481	508	514	535	516	512
		3	588	531	532	744	747	735
		4	440	431	447	645	631	627
		5	497	512	526	717	690	698
	ครั้งที่ 2	1	666	627	685	846	827	847
		2	479	456	485	682	622	621
		3	428	430	429	542	585	531
		4	321	358	370	420	434	461
		5	291	296	326	412	402	395

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ ๗ ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อดื้อปริมาณเซลล์ถูกทำลายเป็นเวลา 14 วัน

ความเข้มข้นของ สารสกัดเชื้อดื้อที่ ผสมอาหาร สำเร็จรูป	จำนวน ทำซ้ำ	ตัว ที่	ไอออนที่ปล่อยออกมาก่อน			ไอออนที่ปล่อยออกมาหลัง		
			ดัม			ดัม		
			วัดครั้งที่ ที่ 1	วัดครั้งที่ ที่ 2	วัดครั้งที่ ที่ 3	วัดครั้งที่ ที่ 1	วัดครั้งที่ ที่ 2	วัดครั้งที่ ที่ 3
0 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	346	343	362	471	469	456
		2	488	520	464	633	602	610
		3	618	621	621	679	730	709
		4	491	545	556	604	589	591
		5	600	682	690	762	746	739
	ครั้งที่ 2	1	689	670	695	809	803	784
		2	450	455	458	547	550	526
		3	451	455	480	510	511	512
		4	402	436	396	480	511	490
		5	446	417	421	645	580	600
0.05 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	301	321	310	378	358	375
		2	415	418	421	492	530	539
		3	480	483	475	540	573	572
		4	625	622	628	727	680	729
		5	572	569	574	724	675	676
	ครั้งที่ 2	1	455	471	505	596	574	605
		2	518	502	517	591	599	592
		3	511	483	485	565	582	607
		4	340	342	337	401	435	426
		5	501	494	492	655	672	670

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ ๗ ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อดอปริมาณเซลล์ถูกทำลายเป็นเวลา 14 วัน (ต่อ)

ความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อดอที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	จำนวนทำซ้ำ	ตัวที่	ไอออนที่ปล่อยออกมาก่อน			ไอออนที่ปล่อยออกมาหลัง		
			คัม			คัม		
			วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่ 2	วัดครั้งที่ 3	วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่ 2	วัดครั้งที่ 3
0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	537	571	552	761	745	761
		2	475	481	481	678	718	679
		3	471	491	497	627	605	618
		4	450	486	466	548	588	572
		5	750	750	756	956	955	976
	ครั้งที่ 2	1	454	471	494	643	640	633
		2	369	379	383	513	530	532
		3	600	632	578	718	720	711
		4	422	427	426	464	545	474
		5	576	530	552	646	592	629
5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	551	569	553	713	696	707
		2	347	352	353	552	604	593
		3	590	606	645	691	693	681
		4	608	596	597	625	645	601
		5	297	318	316	464	418	400
	ครั้งที่ 2	1	454	471	475	659	618	631
		2	578	618	596	719	715	727
		3	500	498	501	653	625	609
		4	431	398	411	460	467	486
		5	440	431	439	568	511	541

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ ๑๗ ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อดื้อปริมาณเซลล์ถูกทำลายเป็นเวลา 14 วัน (ต่อ)

ความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	จำนวนทำซ้ำ	ตัวที่	ไอออนที่ปล่อยออกมาก่อน			ไอออนที่ปล่อยออกมาหลัง		
			ตัว			ตัว		
			วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่ 2	วัดครั้งที่ 3	วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่ 2	วัดครั้งที่ 3
50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	631	654	655	731	735	744
		2	604	640	626	681	735	682
		3	596	601	621	639	651	636
		4	446	437	438	533	555	532
		5	568	567	568	695	732	751
	ครั้งที่ 2	1	392	410	397	457	489	466
		2	336	352	361	457	432	442
		3	545	558	609	640	643	647
		4	514	511	492	649	579	601
		5	543	540	553	837	799	796

ตารางผนวกที่ ๑๘ ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อดื้อปริมาณเซลล์ถูกทำลายที่วิเคราะห์แล้ว

ความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	ร้อยละของไอออนที่ปล่อยออกมาจากเซลล์	
	7 วัน	14 วัน
0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	99.93±2.83 ^b	99.94±2.45 ^A
0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	111.27±3.01 ^a	99.21±1.45 ^A
0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	107.84±3.28 ^{ab}	94.41±2.48 ^A
5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	103.40±4.61 ^{ab}	96.15±3.84 ^A
50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	111.36±3.34 ^a	100.08±2.87 ^A

*อักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ จ9 ผลการนับเม็ดเลือดของกุ้งขาวแต่ละชนิดก่อนเริ่มต้นการทดลอง

ชนิดของเม็ดเลือดกุ้งขาว	จำนวน ทำซ้ำ	จำนวนเม็ดเลือด				
		ตัวที่ 1	ตัวที่ 2	ตัวที่ 3	ตัวที่ 4	ตัวที่ 5
เม็ดเลือดไฮยาติน	ครั้งที่ 1	22	6	18	27	35
	ครั้งที่ 2	30	12	19	28	45
เม็ดเลือดเซมิกรานูลาร์	ครั้งที่ 1	17	3	7	11	12
	ครั้งที่ 2	11	3	2	12	18
เม็ดเลือดกรานูลาร์	ครั้งที่ 1	9	2	0	8	18
	ครั้งที่ 2	9	2	9	13	21

ตารางผนวกที่ จ10 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดต่อเม็ดเลือดไฮยาตินของกุ้งขาวเป็นเวลา 14 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด เห็ดที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	จำนวน ทำซ้ำ	จำนวนเม็ดเลือดไฮยาติน				
		ตัวที่ 1	ตัวที่ 2	ตัวที่ 3	ตัวที่ 4	ตัวที่ 5
0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	73	29	50	45	176
	ครั้งที่ 2	167	93	34	31	46
0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	75	122	14	113	118
	ครั้งที่ 2	16	29	23	32	69
0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	44	47	10	18	22
	ครั้งที่ 2	6	60	22	4	19
5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	60	66	26	30	100
	ครั้งที่ 2	33	26	66	34	38
50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	37	27	33	42	23
	ครั้งที่ 2	90	71	67	10	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ จ11 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อเม็ดเลือดเซมิกรานูลาร์ของกุ้งขาวเป็นเวลา 14 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด เชียดที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	จำนวน ทำซ้ำ	จำนวนเม็ดเลือดเซมิกรานูลาร์				
		ตัวที่ 1	ตัวที่ 2	ตัวที่ 3	ตัวที่ 4	ตัวที่ 5
0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	35	22	27	21	70
	ครั้งที่ 2	64	18	25	12	30
0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	40	41	10	37	30
	ครั้งที่ 2	13	21	10	21	37
0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	26	31	3	13	14
	ครั้งที่ 2	5	34	22	2	11
5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	33	34	24	24	45
	ครั้งที่ 2	24	20	34	28	22
50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	20	11	19	21	16
	ครั้งที่ 2	33	24	37	6	23

ตารางผนวกที่ จ12 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อเม็ดเลือดกรานูลาร์ของกุ้งขาวเป็นเวลา 14 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด เชียดที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	จำนวน ทำซ้ำ	จำนวนเม็ดเลือดกรานูลาร์				
		ตัวที่ 1	ตัวที่ 2	ตัวที่ 3	ตัวที่ 4	ตัวที่ 5
0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	20	10	21	15	49
	ครั้งที่ 2	46	14	17	7	23
0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	27	33	10	30	30
	ครั้งที่ 2	8	19	6	14	36
0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	22	28	3	11	12
	ครั้งที่ 2	1	25	20	0	8
5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	25	20	18	14	36
	ครั้งที่ 2	22	14	27	24	22
50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	19	11	21	21	7
	ครั้งที่ 2	31	24	39	0	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 13 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสเป็นเวลา 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด เชียดที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	จำนวน ทำซ้ำ	ตัวที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 nm				
			นาทีที่ 0	นาทีที่ 3	นาทีที่ 6	นาทีที่ 9	นาทีที่ 12
0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.306	0.433	0.526	0.594	0.67
		2	0.14	0.211	0.274	0.299	0.344
		3	0.144	0.225	0.288	0.338	0.394
		4	0.153	0.27	0.338	0.393	0.458
		5	0.154	0.328	0.37	0.488	0.517
	ครั้งที่ 2	1	0.221	0.327	0.438	0.449	0.508
		2	0.343	0.397	0.5	0.506	0.574
		3	0.34	0.509	0.616	0.709	0.809
		4	0.166	0.253	0.33	0.403	0.438
		5	0.134	0.264	0.308	0.383	0.441
0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.37	0.491	0.556	0.633	0.687
		2	0.4	0.487	0.567	0.652	0.707
		3	0.246	0.385	0.473	0.562	0.639
		4	0.28	0.438	0.526	0.645	0.737
		5	0.313	0.493	0.651	0.811	0.941
	ครั้งที่ 2	1	0.045	0.068	0.076	0.105	0.104
		2	0.1	0.159	0.196	0.248	0.3
		3	0.14	0.283	0.308	0.368	0.355
		4	0.246	0.319	0.378	0.436	0.475
		5	0.37	0.516	0.651	0.801	0.918

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 13 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสเป็นเวลา 7 วัน (ต่อ)

ความเข้มข้นของสารสกัด เชียดที่ผสมอาหาร สำเร็จรูป	จำนวน ทำซ้ำ	ตัวที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 nm				
			นาที่ที่ 0	นาที่ที่ 3	นาที่ที่ 6	นาที่ที่ 9	นาที่ที่ 12
0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.217	0.322	0.378	0.436	0.474
		2	0.101	0.15	0.192	0.239	0.275
		3	0.29	0.374	0.439	0.59	0.664
		4	0.099	0.175	0.243	0.31	0.356
		5	0.051	0.101	0.133	0.167	0.199
	ครั้งที่ 2	1	0.082	0.104	0.13	0.149	0.191
		2	0.059	0.094	0.121	0.133	0.164
		3	0.329	0.483	0.608	0.705	0.836
		4	0.304	0.483	0.613	0.734	0.865
		5	0.378	0.529	0.656	0.747	0.844
5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.353	0.523	0.615	0.731	0.801
		2	0.047	0.078	0.09	0.125	0.13
		3	0.375	0.505	0.595	0.689	0.764
		4	0.191	0.34	0.468	0.579	0.649
		5	0.159	0.283	0.386	0.475	0.547
	ครั้งที่ 2	1	0.16	0.201	0.237	0.314	0.312
		2	0.107	0.163	0.197	0.244	0.272
		3	0.262	0.358	0.421	0.499	0.529
		4	0.272	0.442	0.497	0.618	0.712
		5	0.089	0.233	0.27	0.337	0.395

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ จ13 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดต่อกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสเป็นเวลา 7 วัน (ต่อ)

ความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	จำนวนทำซ้ำ	ตัวที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 nm				
			นาที่ที่ 0	นาที่ที่ 3	นาที่ที่ 6	นาที่ที่ 9	นาที่ที่ 12
50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.357	0.445	0.525	0.597	0.664
		2	0.278	0.381	0.459	0.552	0.617
		3	0.065	0.1	0.127	0.152	0.172
		4	0.228	0.303	0.357	0.4	0.461
		5	0.177	0.327	0.425	0.512	0.593
	ครั้งที่ 2	1	0.071	0.119	0.146	0.155	0.181
		2	0.375	0.529	0.622	0.71	0.78
		3	0.319	0.488	0.584	0.661	0.723
		4	0.264	0.343	0.473	0.592	0.68
		5	0.256	0.244	0.321	0.385	0.438

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 14 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดต่อกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสเป็นเวลา 14 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด เห็ดที่ผสมอาหาร สำเร็จรูป	จำนวน ทำซ้ำ	ตัวที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 nm				
			นาที่ที่	นาที่ที่	นาที่ที่	นาที่ที่	นาที่ที่
			0	3	6	9	12
0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.1	0.154	0.208	0.261	0.32
		2	0.264	0.421	0.533	0.648	0.776
		3	0.21	0.322	0.453	0.552	0.684
		4	0.105	0.168	0.245	0.319	0.421
		5	0.031	0.078	0.157	0.184	0.25
	ครั้งที่ 2	1	0.108	0.183	0.261	0.391	0.43
		2	0.291	0.406	0.609	0.683	0.803
		3	0.163	0.318	0.46	0.585	0.764
		4	0.088	0.224	0.274	0.366	0.482
		5	0.049	0.166	0.247	0.354	0.475
0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.082	0.115	0.187	0.197	0.241
		2	0.01	0.017	0.019	0.025	0.035
		3	0.018	0.037	0.056	0.074	0.098
		4	0.052	0.174	0.221	0.288	0.339
		5	0.016	0.089	0.061	0.083	0.11
	ครั้งที่ 2	1	0.265	0.401	0.489	0.618	0.727
		2	0.39	0.713	0.935	1.079	1.205
		3	0.072	0.154	0.236	0.322	0.414
		4	0.051	0.108	0.171	0.243	0.323
		5	0.086	0.21	0.333	0.453	0.591

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 14 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อดักแด้ต่อกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสเป็นเวลา 14 วัน (ต่อ)

ความเข้มข้นของสารสกัด เชื้อดักแด้ผสมอาหาร สำเร็จรูป	จำนวน ทำซ้ำ	ตัวที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 nm				
			นาทีที่ 0	นาทีที่ 3	นาทีที่ 6	นาทีที่ 9	นาทีที่ 12
0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.284	0.387	0.5	0.612	0.722
		2	0.618	0.793	0.87	1.022	1.159
		3	0.208	0.37	0.582	0.667	0.825
		4	0.055	0.12	0.222	0.265	0.344
		5	0.035	0.085	0.143	0.212	0.284
	ครั้งที่ 2	1	0.187	0.302	0.428	0.557	0.719
		2	0.127	0.222	0.316	0.429	0.52
		3	0.149	0.29	0.426	0.547	0.683
		4	0.153	0.345	0.397	0.563	0.798
		5	0.05	0.111	0.17	0.255	0.351
5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.198	0.313	0.438	0.552	0.691
		2	0.162	0.249	0.336	0.417	0.508
		3	0.137	0.256	0.378	0.481	0.6
		4	0.066	0.026	0.024	0.024	0.023
		5	0.04	0.091	0.15	0.215	0.306
	ครั้งที่ 2	1	0.294	0.455	0.597	0.721	0.85
		2	0.214	0.354	0.483	0.626	0.77
		3	0.168	0.245	0.211	0.261	0.306
		4	0.065	0.141	0.223	0.305	0.395
		5	0.044	0.11	0.183	0.249	0.324

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 14 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสเป็นเวลา 14 วัน (ต่อ)

ความเข้มข้นของสารสกัด เชียดที่ผสมอาหาร สำเร็จรูป	จำนวน ทำซ้ำ	ตัวที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 nm				
			นาทีที่ 0	นาทีที่ 3	นาทีที่ 6	นาทีที่ 9	นาทีที่ 12
50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.248	0.358	0.463	0.558	0.658
		2	0.162	0.27	0.372	0.467	0.575
		3	0.031	0.063	0.094	0.124	0.16
		4	0.065	0.123	0.182	0.243	0.308
		5	0.176	0.323	0.415	0.509	0.621
	ครั้งที่ 2	1	0.251	0.425	0.559	0.676	0.817
		2	0.289	0.467	0.613	0.715	0.851
		3	0.127	0.211	0.247	0.322	0.47
		4	0.087	0.166	0.243	0.315	0.402
		5	0.085	0.181	0.273	0.403	0.548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ จ15 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อปริมาณโปรตีนเป็นเวลา 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด เชียดที่ผสมอาหาร สำเร็จรูป	จำนวนทำซ้ำ	ตัวที่	ค่าการดูดกลืนแสงของโปรตีนที่ 595 nm	
			เจือจาง 10 เท่า	
			วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่ 2
0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.349	0.39
		2	0.254	0.342
		3	0.143	0.228
		4	0.713	0.691
		5	0.563	0.714
	ครั้งที่ 2	1	0.349	0.415
		2	0.278	0.309
		3	0.365	0.412
		4	0.631	0.611
		5	0.513	0.507
0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.475	0.582
		2	0.551	0.593
		3	0.514	0.569
		4	0.365	0.389
		5	0.527	0.664
	ครั้งที่ 2	1	0.286	0.375
		2	0.547	0.572
		3	0.617	0.686
		4	0.576	0.578
		5	0.697	0.712

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ จ15 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อปริมาณโปรตีนเป็นเวลา 7 วัน (ต่อ)

ความเข้มข้นของสารสกัด เชียดที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	จำนวนทำซ้ำ	ตัวที่	ค่าการดูดกลืนแสงของโปรตีนที่ 595 nm	
			เจือจาง 10 เท่า	
			วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่ 2
0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.423	0.468
		2	0.438	0.482
		3	0.312	0.344
		4	0.504	0.574
		5	0.387	0.415
	ครั้งที่ 2	1	0.31	0.366
		2	0.426	0.449
		3	0.357	0.401
		4	0.441	0.444
		5	0.423	0.455
5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.268	0.337
		2	0.476	0.532
		3	0.45	0.494
		4	0.597	0.596
		5	0.34	0.395
	ครั้งที่ 2	1	0.443	0.46
		2	0.424	0.458
		3	0.401	0.432
		4	0.541	0.55
		5	0.564	0.56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 15 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อปริมาณโปรตีนเป็นเวลา 7 วัน (ต่อ)

ความเข้มข้นของสารสกัด เชียดที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	จำนวนทำซ้ำ	ตัวที่	ค่าการดูดกลืนแสงของโปรตีนที่ 595 nm เจือจาง 10 เท่า	
			วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่ 2
50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.295	0.335
		2	0.511	0.634
		3	0.412	0.455
		4	0.58	0.601
		5	0.55	0.615
	ครั้งที่ 2	1	0.203	0.248
		2	0.418	0.479
		3	0.344	0.404
		4	0.497	0.618
		5	0.535	0.56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 16 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อปริมาณ โปรตีนเป็นเวลา 14 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด เชียดที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	จำนวนทำซ้ำ	ตัวที่	ค่าการดูดกลืนแสงของโปรตีนที่ 595 nm	
			เจือจาง 10 เท่า	
			วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่ 2
0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.407	0.472
		2	0.222	0.274
		3	0.279	0.312
		4	0.292	0.305
		5	0.416	0.415
	ครั้งที่ 2	1	0.39	0.409
		2	0.258	0.261
		3	0.374	0.411
		4	0.282	0.307
		5	0.422	0.498
0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.239	0.299
		2	0.39	0.401
		3	0.283	0.39
		4	0.342	0.349
		5	0.345	0.347
	ครั้งที่ 2	1	0.183	0.205
		2	0.391	0.454
		3	0.393	0.529
		4	0.367	0.369
		5	0.369	0.369

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ จ16 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชียดต่อปริมาณโปรตีนเป็นเวลา 14 วัน (ต่อ)

ความเข้มข้นของสารสกัด เชียดที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	จำนวนทำซ้ำ	ตัวที่	ค่าการดูดกลืนแสงของโปรตีนที่ 595 nm	
			เจือจาง 10 เท่า	
			วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่ 2
0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.34	0.35
		2	0.181	0.264
		3	0.228	0.319
		4	0.482	0.573
		5	0.423	0.439
	ครั้งที่ 2	1	0.18	0.269
		2	0.266	0.319
		3	0.42	0.435
		4	0.425	0.456
		5	0.372	0.381
5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.195	0.236
		2	0.206	0.227
		3	0.274	0.348
		4	0.362	0.482
		5	0.377	0.387
	ครั้งที่ 2	1	0.383	0.404
		2	0.176	0.17
		3	0.217	0.329
		4	0.351	0.353
		5	0.318	0.351

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ จ16 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดต่อปริมาณโปรตีนเป็นเวลา 14 วัน (ต่อ)

ความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	จำนวนทำซ้ำ	ตัวที่	ค่าการดูดกลืนแสงของโปรตีนที่ 595 nm เจือจาง 10 เท่า	
			วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่ 2
50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	1	0.406	0.419
		2	0.219	0.211
		3	0.24	0.31
		4	0.422	0.476
		5	0.343	0.348
	ครั้งที่ 2	1	0.283	0.299
		2	0.227	0.265
		3	0.27	0.334
		4	0.356	0.523
		5	0.275	0.31

ตารางผนวกที่ จ17 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดต่อกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (หน่วยต่อนาทีต่อมิลลิกรัมของโปรตีน) ที่วิเคราะห์แล้ว

ความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	กิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (หน่วยต่อนาทีต่อมิลลิกรัมของโปรตีน)	
	7 วัน	14 วัน
0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	148.41±30.48 ^a	170.57±37.55 ^A
0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	84.81±13.48 ^a	123.55±35.33 ^A
0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	89.43±17.31 ^a	158.03±30.95 ^A
5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	103.28±19.39 ^a	144.48±35.85 ^A
50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	85.17±17.94 ^a	152.51±28.62 ^A

*อักษรที่ต่างกันในสมมุติเดียวกัน แสดงว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการแข่งขันเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิใช่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ จ18 ผลของเปอร์เซ็นต์การตายของกุ้งที่ติดเชื้อไวรัสก่อโรคจุกขาว

อัตราส่วนไวรัสก่อโรคจุกขาว	เปอร์เซ็นต์กุ้งที่ตายในแต่ละวัน						
	1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน	5 วัน	6 วัน	7 วัน
0	0	0	0	0	0	0	0
1:100	0	20	80	90	100	100	100
1:500	0	20	40	70	90	90	100
1:1000	0	0	20	40	80	90	100

ตารางผนวกที่ จ19 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อต่ออัตราการตายของกุ้งขาวหลังได้รับไวรัสก่อโรคจุกขาว

ความเข้มข้นของสารสกัดเชื้อที่ผสมอาหารสำเร็จรูป	จำนวนทำซ้ำ	กุ้งเริ่มต้น (ตัว)	อัตราการตาย (ตัว)			
			วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4
0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	7	0	2	1	1
	ครั้งที่ 2	5	0	1	1	0
0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	15	0	2	1	4
	ครั้งที่ 2	10	0	1	2	1
0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	11	0	0	0	2
	ครั้งที่ 2	6	0	0	2	0
5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	6	0	0	0	2
	ครั้งที่ 2	9	0	1	0	0
50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ครั้งที่ 1	15	0	1	2	2
	ครั้งที่ 2	15	0	0	2	4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้