บทที่ 3
การทดลองที่ 1
การละลายและการสูญเสียของออกซิเตตร้าซัยคลินจากอาหารกุ้งกุลาดำ

3.1 บทคัดย่อ

การศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของลักษณะทางกายภาพของอาหารเบอร์ 4 และเบอร์ 5 และศึกษาการละลายของ OTC ในน้ำและการสูญเสียของ OTC จากอาหารผสม OTC (ซึ่งมีตัวยา เท่ากับ 86.4 เปอร์เซ็นต์) ในอัตรา 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และเคลือบด้วยน้ำมันปลา ในน้ำที่มีความเค็ม 0, 15, 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.8 โดยตรวจวัดปริมาณ OTC ละลายในน้ำ ที่ระยะเวลา 30, 60, 120 และ 180 นาที ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) และคำนวณเปอร์เซ็นต์การละลายของ OTC ในน้ำ ผลการศึกษาพบว่า อาหารกุ้ง เบอร์ 4 และ 5 มีลักษณะของเม็ดอาหารเป็นทรงกระบอก มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตร เท่ากับ 1.21 $\pm$ 0.35 และ1.06 $\pm$ 0.24 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร และความหนาแน่นเท่ากับ 2.11 $\pm$ 4.54 และ1.81 $\pm$ 0.07 ตารางมิลลิเมตรต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร ซึ่งพื้นที่ผิวต่อปริมาตรและความหนาแน่นของอาหาร เบอร์ 4 มากกว่าเบอร์ 5 เป็น 1.17 และ 1.14 เท่า ตามลำดับ ปริมาณการละลายของ OTC แตกต่างกันตามระดับของความเค็ม และระยะเวลาที่อาหารแช่อยู่ในน้ำ เมื่อความเค็มและระยะเวลาเพิ่มขึ้นการละลายจะเพิ่มขึ้น โดย OTC มีการละลายจากอาหารเบอร์ 4 และ 5 น้อยที่สุดที่ระดับความเค็ม 0 ส่วนในพันส่วน เวลา 30 นาที เท่ากับ 46.87 $\pm$ 0.83 และ 24.20 $\pm$ 2.87 เปอร์เซ็นต์ และมีการละลายมากที่สุดที่ระดับความเค็ม 40 ส่วนในพันส่วน เวลา 180 นาที เท่ากับ 92.21 $\pm$ 3.54 และ 46.95 $\pm$ 2.24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบในทางสถิติ พบว่าการละลายของอาหารทั้ง 2 เบอร์ ที่ระดับความเค็มและระยะเวลาต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยที่ปริมาณการละลายของ OTC จากอาหารเบอร์ 4 มากกว่า และเร็วกว่าเบอร์ 5 ประมาณ 2 เท่า

3.2 บทนำ

เนื่องจากในปัจจุบันนี้ยังไม่มีอาหารผสมยาสำเร็จรูป (medicated feed) จำหน่ายในท้องตลาด ดังนั้นการให้ยาแก่กุ้งเกษตรกรจึงใช้วิธีการเตรียมอาหารผสมยาปฏิชีวนะด้วยตัวเอง โดยการใช้อาหารสำเร็จรูปคลุกเคล้าผสมกับยา และเคลือบหรืออาจจะไม่เคลือบด้วยน้ำมันปลา แล้วนำอาหารที่ผสมเสร็จแล้วนั้นไปใช้เลี้ยงกุ้งในระยะที่กุ้งเป็นโรค การเตรียมอาหารผสมยาด้วยวิธีดังกล่าวมักจะมีการสูญเสียของยาไปส่วนหนึ่ง ในขั้นตอนของการเตรียมอาหาร และเนื่องจากการ

ละลายของยาในน้ำในระหว่างการให้อาหารแก่กุ้ง ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องนำมาพิจารณา ทั้งนี้กุ้งเป็นสัตว์น้ำที่มีพฤติกรรมการกินอาหารที่ช้ากว่าปลา โดยเมื่อจับเม็ดอาหารได้แล้วจะแทะเล็มกินทีละน้อย ซึ่งใช้เวลาประมาณ 30-60 นาที กว่าอาหารที่หว่านลงในน้ำจะถูกกุ้งแทะเล็มกินได้หมด ซึ่งยาในอาหารจะละลายออกไปเรื่อยๆ ทำให้กุ้งได้รับยาไม่ตรงตามปริมาณที่คำนวณไว้ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้การใช้ยาไม่ได้ผลเท่าที่ควร ข้อที่ควรคำนึงในการผสมยาปฏิชีวนะในอาหารเพื่อให้ได้คุณภาพดี ยาและอาหารจะต้องผสมกันเป็นเนื้อเดียวอย่างทั่วถึง ซึ่งจะทำให้ปริมาณยาที่ให้มีอยู่อย่างครบถ้วน และอยู่คงทนในอาหารเป็นระยะเวลาที่นานพอสมควรเหมาะสมกับพฤติกรรมการกินอาหารของสัตว์น้ำ โดยไม่ละลายหรือสูญเสียไปก่อนที่ที่จะถูกกิน การสูญเสียของยาจากอาหารเกี่ยวข้องกับปัจจัยที่สำคัญได้แก่ พื้นที่ผิวของเม็ดอาหาร, ความเป็นกรด-ด่างของน้ำ และอุณหภูมิของน้ำ (Fribourgh *et al.*, 1969)

OTC เป็นยาปฏิชีวนะที่เกษตรกรนิยมกันอย่างกว้างขวางในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำโดยเฉพาะในบ่อเลี้ยงเพื่อป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย จึงได้คัดเลือกเพื่อใช้ในการศึกษา การศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อทราบการละลายของ OTC เมื่อลงในน้ำ ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแนวทางที่เหมาะสมในการเตรียมอาหารผสมยาที่มีประสิทธิภาพ และเป็นประโยชน์ในการควบคุมการใช้ยาในการเลี้ยงกุ้งอย่างถูกต้อง และเป็นการสนับสนุนความพยายามของกรมปศุสัตว์ร่วมกับกรมประมงที่จะผลักดันให้มีการผลิตอาหารยาอย่างถูกต้องตามกฎหมาย ซึ่งจะทำให้มีการควบคุมการใช้อาหารยา และทราบข้อมูลการใช้อาหารยาในฟาร์ม สามารถแก้ปัญหาการตกค้างของยาในผลิตภัณฑ์กุ้งส่งออก และป้องกันการแพร่กระจายของยาสู่สิ่งแวดล้อม อันจะเป็นการสนับสนุนธุรกิจการเลี้ยงกุ้งทะเลและธุรกิจส่งออกของประเทศให้ยั่งยืนต่อไป

3.3 วัตถุประสงค์

(1) เพื่อศึกษาปริมาณการละลายในน้ำและการสูญเสียของ OTC จากอาหารกุ้งเบอร์ 4 และ 5 ที่ระดับความเค็ม 0, 15, 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน

(2) เพื่อศึกษาลักษณะและคุณสมบัติทางกายภาพของอาหารกุ้งกุลาดำเบอร์ 4 และ 5

3.4 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.4.1 อาหารทดลอง

อาหารที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารกุ้งกุลาดำสำเร็จรูปชนิดเม็ด มีคุณสมบัติจมน้ำ ซึ่งมีจำหน่ายในท้องตลาดทั่วไปและขึ้นทะเบียนกับกรมประมงแล้ว โดยทั่วไปแล้วอาหารกุ้งกุลาดำที่นิยมใช้กันนั้น มีทั้งหมด 6 ขนาด ใช้เลี้ยงตั้งแต่กุ้งกุลาดำขนาดเล็กจนถึงขนาดจับขาย โดยมีลักษณะ

แตกต่างกันดังนี้ อาหารกุ้งเบอร์ 1 เป็นอาหารเกล็ดเล็ก ใช้กับกุ้งขนาดน้ำหนัก 0.02-0.2 กรัม เบอร์ 2 เป็นอาหารเกล็ดกลาง ใช้กับกุ้งขนาดน้ำหนัก 0.2-2.0 กรัม เบอร์ 3 เป็นอาหารเกล็ดใหญ่ ใช้กับกุ้งขนาดน้ำหนัก 2.0-7.0 กรัม เบอร์ 4 เป็นอาหารเม็ดจมน้ำขนาดเล็ก ใช้กับกุ้งขนาดน้ำหนัก 7.0-12.0 กรัม เบอร์ 5 เป็นอาหารเม็ดจมน้ำขนาดกลาง ใช้กับกุ้งขนาดน้ำหนัก 12.0-20.0 กรัม และเบอร์ 6 เป็นอาหารเม็ดจมน้ำขนาดใหญ่ ใช้กับกุ้งขนาดน้ำหนักมากกว่า 20.0 กรัม

การศึกษาครั้งนี้เลือกใช้อาหารเบอร์ 4 และ 5 เนื่องจากเป็นขนาดที่ใช้สำหรับกุ้งที่มีอายุการเลี้ยงในช่วงเดือนที่ 3 และ 4 และใช้เลี้ยงกุ้งในช่วงระยะเวลาค่อนข้างนาน ส่วนอาหารกุ้งเบอร์ 6 นั้นนิยมใช้ในระยะสั้นๆ เพื่อเร่งการเจริญเติบโตก่อนจับกุ้งหรือไม่ใช้เลยก็ได้ในกรณีที่กุ้งมีขนาดโตเพียงพอที่จะจับขายแล้ว ซึ่งปัจจุบันนี้ไม่มีการผลิตแล้ว

3.4.2 ยาปฏิชีวนะออกซิเตตร้าซัยคลิน

ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทดลองได้แก่ออกซิเตตร้าซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ (มีตัวยา 86.4 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งโดยทั่วไปนิยมใช้ในการป้องกัน และรักษาโรคติดเชื้อ เนื่องจากแบคทีเรียและสามารถซื้อได้ในท้องตลาดทั่วไป

3.4.3 วิธีทำการศึกษา

การศึกษาแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือศึกษาลักษณะและคุณสมบัติทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของอาหาร และศึกษาการละลายในน้ำและการสูญเสียของ OTC จากอาหาร ซึ่งมีรายละเอียดของวิธีการศึกษาดังนี้

3.4.3.1 ลักษณะและคุณสมบัติทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมี

(1) ลักษณะและคุณสมบัติทางกายภาพ

ทำการบันทึกลักษณะของการบรรจุอาหารและป้ายระบุค่าต่างๆของอาหาร เช่น องค์ประกอบของอาหาร น้ำหนักบรรจุ เป็นต้น และสุ่มเม็ดอาหารจำนวน 20 เม็ด จากส่วนต่างๆในแต่ละถุง จำนวน 3 ถุง แล้วนำมาชั่งด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าเพื่อหาน้ำหนักของอาหารแต่ละเม็ด และเนื่องจากอาหารกุ้งมีรูปทรงเป็นทรงกระบอกจึงวัดค่ารัศมี (ครึ่งหนึ่งของเส้นผ่าศูนย์กลาง) และวัดค่าความสูงของเม็ดอาหารแต่ละเม็ด จำนวน 20 เม็ด นำมาหาค่าเฉลี่ย และคำนวณหาค่าความหนาแน่นของเม็ดอาหาร และพื้นที่ผิวต่อปริมาตร จากสูตร (Fribourgh *et al.*, 1969)

ความหนาแน่น = น้ำหนัก (มก.) /ปริมาตร (ลบ.มม.)

พื้นที่ผิว(ตร.มม.)/ปริมาตร(ลบ.มม) = $(2\pi rh+2\pi r^2) / \pi r^2 h$

โดยที่ r = ค่ารัศมีเฉลี่ยของเม็ดอาหาร

h = ค่าความสูงเฉลี่ยของเม็ดอาหาร

(2) องค์ประกอบทางเคมี

นำอาหารบดให้ได้ขนาดที่สามารถผ่านตะแกรงกรองขนาดความถี่ 1 มิลลิเมตร คลุกเคล้าตัวอย่างที่บดแล้วให้เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenized) และเก็บในขวดแก้วที่แห้งที่อุณหภูมิห้อง นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ตามวิธีการของ AOAC (1990) ได้แก่ ความชื้น โปรตีน (Kjeldatherm Digestion and Vapodest Distillign System, Bonn, West Germany, Kjeltec auto 1035/38 sampler system, Tecator AB, Haganas, Sweden) ไขมัน (Ether extraction ; Soxtec system HT, Tecator AB, Hoganas, Sweden) เยื่อใย (Weede method; Fibertec System M, Tecator AB, Hoganas, Sweden) เถ้า (Muffle Furnace Combustion; Laboratory Box Furnace, Linberg, Wisconsin, USA) และ Nitrogen Free Extract (NFE) ซึ่งคำนวณได้จาก 100- (% โปรตีน + % ไขมัน + % เถ้า + % เยื่อใย)

3.4.3.2 การละลายในน้ำและการสูญเสียของออกซิเตตร้าซัยคลินจากอาหารกุ้ง

(1) การละลายในน้ำของ OTC จากอาหารกุ้ง

นำอาหารกุ้งเบอร์ 4 และเบอร์ 5 ปริมาณ 3 กิโลกรัม มาผสมกับ OTC ในอัตรา 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ตามแบบวิธีที่เกษตรกรปฏิบัติ โดยการละลายยาในน้ำกลั่น แล้วฉีดพ่นผสมกับอาหาร คลุกเคล้าให้ยาผสมกับอาหารอย่างทั่วถึงด้วยมือจากนั้นเคลือบด้วยน้ำมันปลาในอัตรา 30 มิลลิลิตรต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และนำตัวอย่างอาหารกุ้งที่ผสม OTC แล้วแต่ละเบอร์ไปวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น และหาปริมาณ OTC ในอาหารก่อนเริ่มการทดลอง โดยแบ่งตัวอย่างอาหารออกเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งนำไปวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นในอาหาร โดยการอบแห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่ แล้วคำนวณหาปริมาณความชื้น อีกส่วนหนึ่งนำมาวิเคราะห์หาปริมาณยา ด้วยวิธีซึ่งดัดแปลงวิธีการวิเคราะห์ของ Oka และคณะ (1985) โดยชั่งอาหารผสม OTC 3.75 กรัม นำไปผสมกับสารละลาย McIlvaine Buffer 50 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันเป็นระยะเวลา 10 นาที แล้วนำไปปั่นให้ตกตะกอน (centrifuged) ที่ความเร็วรอบ 2000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นดูดสารละลายส่วนใส 5 มิลลิลิตร นำไปฉีดผ่าน sep-pak C_{18} (ซึ่งได้ activated ด้วยการผ่าน methanol 10 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร ตาม

ลำดับเรียบร้อยแล้ว) จากนั้นล้าง sep-pak C_{18}ด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และชะ (eluted) OTC ออกจาก sep-pak C_{18} ด้วยสารละลาย 0.02 M methanolic oxalic acid 5 มิลลิลิตร และกรองสารละลาย OTC ที่ได้ด้วย membrane filter (polytetrafluoloethylene, PTFE) ขนาด 0.45 ไมครอน เขย่าสารละลายที่กรองได้ให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน (ปริมาตร 5 มิลลิลิตร) จากนั้นนำสารละลายดังกล่าว ฉีดเข้าเครื่อง HPLC และคำนวณปริมาณ OTC ในตัวอย่าง ได้ดังนี้

$$\text{ปริมาณ OTCในอาหาร (ส่วนในล้านส่วน)} = \frac{C \times E \times B}{S \times W}$$

โดยที่ C = ค่าความเข้มข้นที่ได้จาก Calibration Curve (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

E = ปริมาตรของสารละลายที่ได้จากการชะ (elute) OTC ออกจาก sep-pak ซึ่งเท่ากับ 5 มิลลิลิตร

B = ปริมาตรของสารสกัด McIlvaine Buffer ซึ่งเท่ากับ 50 มิลลิลิตร

S = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่นำไปผ่าน sep-pak ซึ่งเท่ากับ 5 มิลลิลิตร

W = น้ำหนักอาหาร (กรัม)

ศึกษาการละลายของ OTC ในน้ำโดยนำอาหารแต่ละเบอร์ (เบอร์ 4 และ 5) ที่ผสมยาแล้วแบ่งออกเป็น 12 ส่วน ส่วนละ 40 กรัม ใส่อาหารลงในกระชอนไนล่อนค่อยๆ จุ่มลงในบีกเกอร์ (beaker) ขนาด 2 ลิตร ที่มีปริมาตรน้ำ 1,500 มิลลิลิตร มีระดับความเค็มที่แตกต่างกัน 4 ระดับ (treatment) คือ 0, 15, 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้เท่ากับ 7.8 และนำบีกเกอร์วางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่ปรับอุณหภูมิให้อยู่ที่ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นระดับอุณหภูมิและ ความเป็นกรด-ด่าง ที่เป็นค่าเฉลี่ยของน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งในพื้นที่การเลี้ยงกุ้งของจังหวัดสตูล โดยในแต่ละระดับความเค็ม มีจำนวน 3 ซ้ำ (replication)

เก็บตัวอย่างน้ำในแต่ละความเค็มจากแต่ละบีกเกอร์ครั้งละ 4 มิลลิลิตร ที่เวลา 30, 60, 120 และ 180 นาที หลังจากที่วางอาหารลงในน้ำ โดยที่ก่อนเก็บตัวอย่างน้ำจะคนน้ำในบีกเกอร์ให้ทั่วกัน นำตัวอย่างน้ำไปวิเคราะห์ปริมาณการละลายของ OTC จากอาหารลงในน้ำ ตามวิธีการวิเคราะห์ของ Oka และคณะ (1985) โดยนำน้ำตัวอย่างที่ได้กรองผ่าน Membrane filter (PTFE) ขนาด 0.45 ไมครอน จากนั้นนำตัวอย่างน้ำที่กรองแล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC แล้วนำค่าความเข้มข้นของ OTC ในน้ำที่ตรวจวัดได้ไปคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การละลาย โดยคำนวณเปรียบเทียบจากฐาน

Central Library
Prince of Songkla University

ของความเข้มข้นของ OTC ที่มีได้สูงสุด ซึ่งคำนวณได้จากการละลายของ OTC ทั้งหมด (100 เปอร์เซ็นต์) ที่มีในอาหารผสม OTC 40 กรัม ลงในน้ำ 1500 มิลลิลิตร ได้ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การละลาย} = \frac{\text{ค่าความเข้มข้นของ OTC ตรวจวัดได้ (ส่วนในล้านส่วน)} \times 100}{\text{ค่าความเข้มข้น OTC ที่มีได้สูงสุด (ส่วนในล้านส่วน)}}$$

นำข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Factorial design (General Linear Model, GLM) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น และเปอร์เซ็นต์การละลายของ OTC ในน้ำ จากอาหารกุ้ง 2 ขนาด ที่ระดับความเค็มและระยะเวลาต่างกัน ด้วย Tukey HSD Test และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การละลายของ OTC ในน้ำที่ระดับความเค็มต่างๆ ระหว่างอาหารกุ้ง 2 ขนาด ด้วย t -test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (ธวัชชัย, 2542)

(2) การสูญเสียของ OTC ในอาหารกุ้ง

นำอาหารผสมยาที่แช่น้ำแล้วเป็นเวลา 180 นาที (3 ชั่วโมง) ของแต่ละซ้ำจากการศึกษาการละลายของ OTC ในน้ำข้อ (1) มาวิเคราะห์หาปริมาณ OTC ที่คงเหลือในอาหารและวิเคราะห์หาความชื้น ด้วยวิธีเดียวกันดังกล่าวข้างต้น เพื่อคำนวณหาปริมาณ OTC ในอาหารแต่ละเบอร์บนฐานของน้ำหนักแห้ง และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณ OTC เริ่มต้น และปริมาณ OTC คงเหลือในอาหาร 2 ขนาด ที่แช่ในน้ำที่มีระดับความเค็มต่างกัน เป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Factorial design (GLM) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของปริมาณ OTC ด้วย Tukey HSD Test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (ธวัชชัย, 2542)

3.5 ผลและวิจารณ์

3.5.1 ลักษณะและคุณสมบัติทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารกุ้ง

ลักษณะและคุณสมบัติทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารกุ้งกุลาดำเบอร์ 4 และ 5 แสดงดังตารางที่ 1 และ 2 โดยอาหารกุ้งเบอร์ 4 และเบอร์ 5 ซึ่งเป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปชนิดจมน้ำ ลักษณะของเม็ดอาหารเป็นรูปทรงกระบอก บรรจุในกระสอบพลาสติก มีน้ำหนักบรรจุกระสอบละ 25 กิโลกรัม อาหารกุ้งเบอร์ 4 ใช้กับกุ้งขนาด 7.0-12.0 กรัม จะมีขนาดของเม็ดอาหารเล็กกว่า เบอร์ 5 ซึ่งใช้กับกุ้งขนาด 12.0-20.0 กรัม ทำให้มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก รัศมี ความสูง พื้นที่ผิว และปริมาตร มีค่าน้อยกว่าอาหารกุ้งเบอร์ 5 เท่ากับ 0.67, 0.89, 0.74, 0.68 และ 0.59 เท่า ตามลำดับ ทำให้มีค่าเฉลี่ยของความหนาแน่น และพื้นที่ผิวต่อปริมาตร ของอาหารเบอร์ 4 มากกว่าอาหารเบอร์ 5 เท่ากับ 1.17 และ 1.14 เท่า

สำหรับองค์ประกอบทางเคมีของอาหารกุ้งเบอร์ 4 และเบอร์ 5 แสดงไว้ในตารางที่ 2 โดยมีองค์ประกอบทางเคมี ดังนี้คือ โปรตีน เท่ากับ 45.99 และ 48.60 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน เท่ากับ 6.63 และ 7.06เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย เท่ากับ 2.36 และ 2.19 และเถ้า เท่ากับ 12.52 และ 11.60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่เหมาะสมจะใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ และดีกว่าค่ามาตรฐานที่ใช้ประกอบในการการพิจารณาขอขึ้นทะเบียนกับกรมประมง คือ มีโปรตีนไม่น้อยกว่า 36 เปอร์เซ็นต์ มีไขมันไม่น้อยกว่า 3 เปอร์เซ็นต์ มีเยื่อใยไม่น้อยกว่า 3 เปอร์เซ็นต์ และมีความชื้นไม่มากกว่า 12 เปอร์เซ็นต์ (อมรรัตน์ และคณะ, 2538)

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางกายภาพของอาหารกุ้งเบอร์ 4 และเบอร์ 5

คุณสมบัติทางกายภาพ	ขนาดของเม็ดอาหาร[1]		ค่าที่แตกต่าง
	เบอร์ 4	เบอร์ 5	(เท่า)
น้ำหนักเฉลี่ย (มก.)	26.98 ± 0.01	40.53 ± 0.00	0.67
รัศมีเฉลี่ย (มม.)	1.16 ± 0.01	1.31 ± 0.06	0.89
ความสูงเฉลี่ย (มม.)	5.26 ± 0.02	7.09 ± 0.72	0.74
พื้นที่ผิว (ตร.มม.)	46.90 ± 0.02	69.13 ± 2.55	0.68
ปริมาตร (ลบ.มม.)	22.35 ± 0.00	38.13 ± 1.17	0.59
ความหนาแน่น (มก./ตร.มม.)	1.21 ± 0.35	1.06 ± 0.24	1.14
พื้นที่ผิว/ปริมาตร (ตร.มม./ลบ.มม.)	2.11 ± 4.51	1.81 ± 0.07	1.17

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, n = 20

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารกุ้งเบอร์ 4 และเบอร์ 5

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (% ของน้ำหนักแห้ง)	
	เบอร์ 4	เบอร์ 5
โปรตีน	45.99	48.60
ไขมัน	6.63	7.06
เยื่อใย	2.36	2.19
เถ้า	12.52	11.60
NFE	32.50	30.55

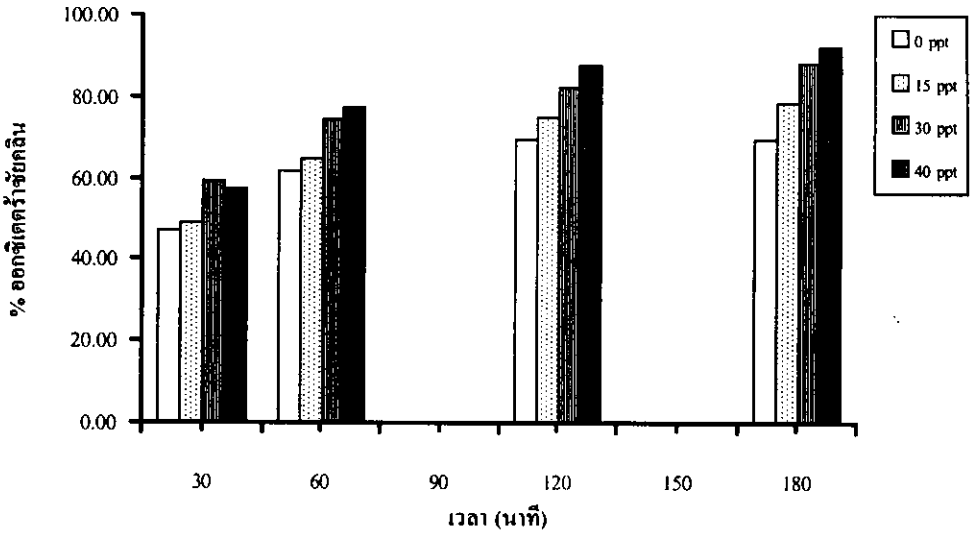
3.5.2 การละลายในน้ำและการสูญเสียของออกซิเตตร้าซัยคลินจากอาหารกุ้ง

3.5.2.1 การละลายในน้ำของออกซิเตตร้าซัยคลินจากอาหารกุ้ง

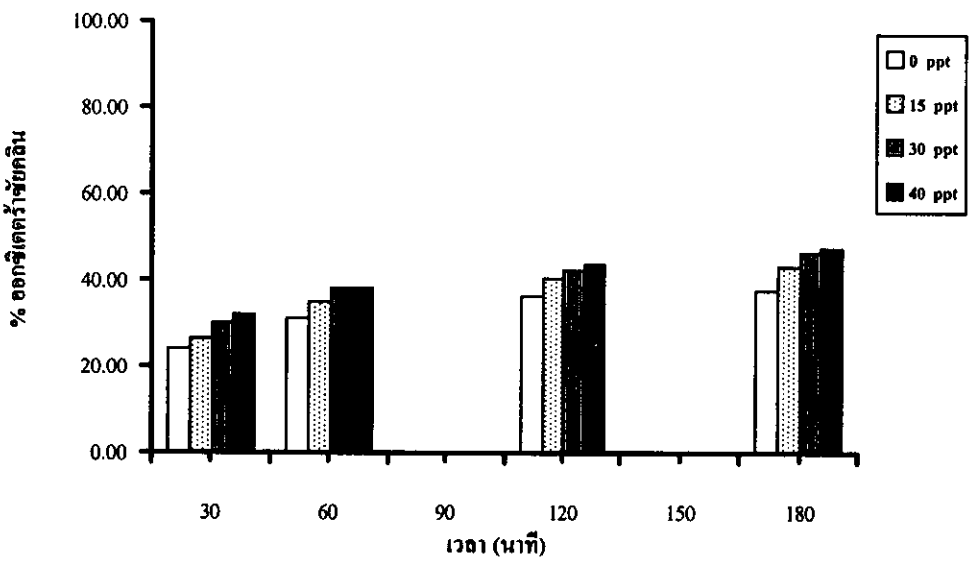
การละลายของ OTC ในน้ำจากอาหารกุ้งเบอร์ 4 ที่ระดับความเค็มแตกต่างกันพบว่ามีปริมาณที่แตกต่างกัน โดยพบว่าเมื่อความเค็มเพิ่มขึ้น การละลายจะเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นปริมาณการละลายจะแตกต่างกันตามระยะเวลาของอาหารที่อยู่ในน้ำด้วย กล่าวคือ เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นการละลายเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 2) ที่ระดับความเค็ม 0 ส่วนในพันส่วน และ 30 นาที มีการละลายน้อยที่สุด คือ 46.87 $\pm$ 0.83 เปอร์เซ็นต์ สำหรับที่ระดับความเค็ม 40 ส่วนในพันส่วน และ 180 นาที มีการละลายมากที่สุดคือ 92.21 $\pm$ 3.54 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) และปริมาณการละลายของ OTC ในช่วง 30 นาทีแรก มีค่าอยู่ในระหว่าง 45-50 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเค็ม 0 และ 15 ส่วนในพันส่วน แต่พบมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อความเค็มเพิ่มขึ้นที่ระดับ 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน

การละลายของ OTC ในน้ำจากอาหารกุ้งเบอร์ 5 ที่ระดับความเค็มของน้ำแตกต่างกันพบว่ามีปริมาณที่แตกต่างกัน โดยพบว่าเมื่อความเค็มเพิ่มขึ้น การละลายเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นปริมาณการละลายจะแตกต่างกันตามระยะเวลาของอาหารที่อยู่ในน้ำด้วย กล่าวคือ เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นการละลายเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน (ภาพที่ 2) ที่ระดับความเค็ม 0 ส่วนในพันส่วน ที่ 30 นาที มีค่าน้อยที่สุดคือ 24.20 $\pm$ 2.87 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ ที่ระดับความเค็ม 40 ส่วนในพันส่วน ที่ 180 นาที มีการละลายสูงที่สุดคือ 47.59 $\pm$ 1.83 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) และปริมาณการละลายของ OTC ในช่วง 30 นาทีแรก มีค่าอยู่ในระหว่าง 20-35 เปอร์เซ็นต์ ในทุกระดับของความเค็ม

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของปริมาณ (เปอร์เซ็นต์) การละลายในน้ำของ OTC ในอาหารกุ้งเบอร์ 4 และ 5 ที่ระดับความเค็ม 4 ระดับ (0, 15, 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน) และระยะเวลาต่างๆ กัน (30, 60, 120 และ180 นาที) แสดงในตารางที่ 3, 4 ซึ่งพบว่าปริมาณการละลายในน้ำของ OTC จากอาหารกุ้งเบอร์ 4 และ 5 ที่ระยะเวลาต่างๆในทุกระดับความเค็ม มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการละลายระหว่างอาหาร 2 ขนาด (เบอร์) พบว่าอาหารกุ้งเบอร์ 4 มีการละลายที่มากกว่า เบอร์ 5 และที่ระยะเวลา 30-180 นาที ปริมาณการละลายของ OTC จากอาหารกุ้งเบอร์ 4 และ 5 มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในขณะที่ระดับความเค็ม 0 - 30 ส่วนในพันส่วน ปริมาณการละลายของ OTC มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P \leq 0.05$) แต่ที่ระดับความเค็ม 30-40 ส่วนในพันส่วน ปริมาณการละลายของ OTC ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P \geq 0.05$)



ภาพที่ 2 เปอร์เซ็นต์ของ OTC ที่ละลายในน้ำ ที่ความเค็มและระยะเวลาต่างๆ ของอาหารกุ้งเบอร์ 4



ภาพที่ 3 เปอร์เซ็นต์ของ OTC ที่ละลายในน้ำ ที่ความเค็มและระยะเวลาต่างๆ ของอาหารกุ้งเบอร์ 5

ตารางที่ 3 ปริมาณการละลายของ OTC ในน้ำจากอาหารกุ้งที่ระดับความเค็ม 0 , 15 , 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน ที่เวลา 30, 60, 120 และ 180 นาที ที่ pH 7.8 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ความเค็ม (ส่วนในพันส่วน)	ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณการละลายของ OTC [1]			
		อาหารเบอร์ 4		อาหารเบอร์ 5	
		ความเข้มข้น (ส่วนในล้านส่วน)	เปอร์เซ็นต์	ความเข้มข้น (ส่วนในล้านส่วน)	เปอร์เซ็นต์
0	30	38.59 ± 0.68 [a]	46.87 ± 0.83 [a]	12.46 ± 1.48 [a]	24.20 ± 2.87 [a]
	60	50.84 ± 1.95 [b]	61.75 ± 2.37 [b]	16.02 ± 1.81 [b]	31.10 ± 3.51 [b]
	120	57.41 ± 3.15 [c]	69.73 ± 3.82 [c]	18.68 ± 0.91 [c]	36.27 ± 1.76 [c]
	180	57.50 ± 3.21 [d]	69.84 ± 3.90 [d]	19.48 ± 1.58 [d]	37.82 ± 3.07 [d]
15	30	40.43 ± 2.18 [a]	49.11 ± 2.65 [a]	13.68 ± 1.31 [a]	26.57 ± 2.55 [a]
	60	53.24 ± 1.54 [b]	64.66 ± 1.87 [b]	17.98 ± 0.43 [b]	34.92 ± 0.83 [b]
	120	61.69 ± 2.66 [c]	74.93 ± 3.24 [c]	20.88 ± 2.13 [c]	40.54 ± 4.14 [c]
	180	63.33 ± 4.54 [d]	78.26 ± 3.54 [d]	21.65 ± 0.57 [d]	43.04 ± 2.10 [d]
30	30	48.65 ± 2.51 [a]	59.09 ± 3.05 [a]	15.55 ± 0.94 [a]	30.20 ± 1.82 [a]
	60	61.43 ± 1.52 [b]	74.61 ± 1.85 [b]	19.59 ± 1.04 [b]	38.04 ± 2.02 [b]
	120	67.99 ± 2.12 [c]	82.58 ± 2.58 [c]	21.75 ± 2.48 [c]	42.24 ± 4.82 [c]
	180	72.56 ± 1.44 [d]	88.13 ± 1.74 [d]	24.05 ± 1.15 [d]	46.60 ± 2.18 [d]
40	30	47.34 ± 2.38 [a]	57.50 ± 2.90 [a]	15.56 ± 0.90 [a]	32.02 ± 1.74 [a]
	60	63.60 ± 3.53 [b]	77.25 ± 4.29 [b]	19.54 ± 0.64 [b]	37.95 ± 1.24 [b]
	120	72.25 ± 4.39 [c]	87.76 ± 5.34 [c]	22.60 ± 1.61 [c]	43.88 ± 3.13 [c]
	180	75.92 ± 2.92 [d]	92.21 ± 3.54 [d]	24.52 ± 0.94 [d]	47.59 ± 1.83 [d]

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ในแต่ละระดับความเค็มที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4 ปริมาณการละลาย (เปอร์เซ็นต์) ของ OTC ในน้ำ[1] จากอาหารกุ้งที่ระดับความเค็ม 0 , 15, 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน ที่ pH 7.8 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่เวลา 180 นาที

เบอร์อาหาร	ระดับความเค็ม (ส่วนในพันส่วน)			
	0	15	30	40
4	62.05 ± 10.10^{ax}	66.41 ± 11.91^{ay}	76.10 ± 11.60^{az}	78.68 ± 14.41^{az}
5	32.35 ± 6.08^{bx}	36.02 ± 6.69^{by}	39.29 ± 6.84^{bz}	39.91 ± 7.09^{bz}

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่มีตัวอักษร (a-b) เหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \geq 0.05$)

ค่าเฉลี่ยในแต่ละแถว (x-z) ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \geq 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบขนาดของเม็ดอาหาร และการละลายของ OTC จากตารางที่ 1 และ 2 และ ภาพที่ 2 และ 3 พบว่า ปริมาณการละลายของ OTC จากอาหารกุ้งเบอร์ 4 และ เบอร์ 5 มีความแตกต่างกัน เนื่องจากมีคุณสมบัติทางกายภาพที่แตกต่างกัน โดยอาหารกุ้งทั้ง 2 ขนาดมีลักษณะของเม็ดอาหารเป็นรูปทรงกระบอก แต่อาหารเบอร์ 4 มีค่าพื้นที่ผิวต่อปริมาตร และความหนาแน่นมากกว่าอาหารเบอร์ 5 เท่ากับ 1.17 และ 1.14 เท่า ทำให้มีการละลายที่มากกว่า และเร็วกว่าอาหารเบอร์ 5 โดยอาหารเบอร์ 4 มีการละลายในช่วง 40-95 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่อาหารเบอร์ 5 มีการละลายอยู่ในช่วง 20-50 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็นประมาณ 1.8-1.9 เท่า ในสภาพที่ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ เท่ากับ 7.8 และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งผลการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องการศึกษาของ Fribourgh และคณะ (1969) ที่พบว่า อาหารปลา 2 ขนาด ที่มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตร มากกว่ากัน 2 เท่า มีการละลายที่ระยะเวลาต่างๆกัน คือ 3, 9 และ 15 นาที เฉลี่ยมากกว่า 1.76 เท่า ทั้งนี้การที่การศึกษาของ Fribourgh และคณะ (1969) ใช้ระยะเวลาที่น้อยกว่าการศึกษาในอาหารกุ้งเนื่องจากปลามีพฤติกรรมในการกินอาหารที่เร็วกว่า และแตกต่างจากกุ้งมาก

จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าการละลายของ OTC จากอาหารลงสู่น้ำเกิดขึ้นได้ในทุกระดับความเค็มของน้ำที่ใช้ในการศึกษา (ซึ่งเป็นระดับความเค็มของน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำในพื้นที่ชายฝั่งทะเล) และปริมาณการละลายจะแปรผันตามระดับความเค็ม และระยะเวลาที่อาหารแช่อยู่ในน้ำ กล่าวคือเมื่อความเค็มเพิ่มขึ้นและระยะเวลาเพิ่มขึ้นการละลายจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย อธิบายได้ว่าปริมาณ OTC ที่เหลือในอาหารจะลดน้อยลงไปด้วย และเนื่องจากกุ้งเป็นสัตว์น้ำที่กินอาหารค่อนข้างช้าและจะค่อยแทะเล็มกินอาหารที่ละน้อย ซึ่งใช้เวลาประมาณ 30-60 นาที กว่าอาหารที่หว่านลงไปในน้ำจะถูกแทะเล็มกินได้หมด OTC จะละลายออกไปเรื่อยๆจนทำให้กุ้งได้รับ OTC ไม่

ครบถ้วนตรงตามปริมาณที่คำนวณไว้ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การใช้ OTC ในการรักษาโรคกุ้งของเกษตรกรโดยส่วนใหญ่ไม่ได้ผลเท่าที่ควร เนื่องจากเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาพิจารณาเปรียบเทียบกันกับพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งแล้วจะเห็นได้ว่า ในน้ำที่มีระดับความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยของค่าความเค็ม และอุณหภูมิของน้ำ ที่พบในบ่อเลี้ยงกุ้งเป็นส่วนใหญ่นั้น การละลายของ OTC จากอาหารเบอร์ 4 ที่เวลา 30 และ 60 นาที มีมากถึง 59.09 $\pm$ 3.05 และ 74.61 $\pm$ 1.85 เปอร์เซ็นต์ นั่นคือมีปริมาณ OTC ละลายออกมาในปริมาณที่มากกว่าครึ่งหนึ่งของปริมาณ OTC ที่มีในอาหาร สำหรับอาหารเบอร์ 5 การละลายของ OTC ที่ตรวจพบในระดับความเค็มและอุณหภูมิเดียวกัน คิดเป็น 30.20 $\pm$ 1.82 และ 38.04 $\pm$ 2.02 เปอร์เซ็นต์ นั่นคือมีปริมาณ OTC ละลายออกมาในปริมาณที่มากกว่าหนึ่งในสามของปริมาณ OTC ที่มีในอาหาร การละลายของ OTC อาหารเบอร์ 5 ที่ในระดับความเค็ม 40 ส่วนในพันส่วน ที่ 180 นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.8 มีการละลายสูงที่สุดคือ 46.95 $\pm$ 4.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Huguera-Ciapara และคณะ (1992) ที่พบว่า การละลายของ OTC ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.5 มีการละลายสูงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเวลาผ่านไป 4 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ สุภาวดี และคณะ (2535) รายงานว่าปริมาณการละลายของ OTC ที่ตรวจพบละลายในน้ำสูงที่สุดเกิดขึ้นในช่วง 2 ชั่วโมง หลังจากเริ่มทดลองโดยมีค่าประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้อยกว่าการศึกษาครั้งนี้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ อาจจะเนื่องมาจากการใช้วิธีการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน คือใช้วิธีการวิเคราะห์ทางจุลชีวะในการศึกษา

ผลจากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การละลายของ OTC จากอาหารลงสู่น้ำนั้นแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับระดับความเค็มของน้ำ ระยะเวลาที่อาหารแช่ในน้ำและ ขนาดของเม็ดอาหาร ดังนั้นข้อที่ควรคำนึงถึงการให้อาหารที่ผสม OTC ในอัตรา 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และเคลือบน้ำมันปลาแก่กุ้งคือที่ระดับความเค็มของน้ำ และระยะเวลาที่อาหารแช่ในน้ำที่แตกต่างกันนั้น ปริมาณ OTC ที่กุ้งจะได้รับนั้นจะแตกต่างกันด้วย ดังนั้นแนวทางในการรักษากุ้งที่เป็นโรคด้วยอาหารผสม OTC นั้น ควรที่ต้องคำนึงถึงระยะเวลาของการให้อาหารด้วยไม่ควรจะปล่อยให้อาหารแช่อยู่ในน้ำนานเกินไป หรือมีอาหารเหลือในบ่อ เพราะจะทำให้สูญเสีย OTC ลงในน้ำ มีการสะสมของ OTC ในน้ำ และเป็นการสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย ปัจจัยต้องคำนึงถึงอีกประการหนึ่ง คือช่วงที่ให้อาหารผสมยากับกุ้งนั้นโดยทั่วๆไปจะให้ในช่วงที่กุ้งกำลังเป็นโรคทำให้การกินอาหารของกุ้งลดลง การละลายของ OTC ลงในน้ำจะมีปริมาณที่มากเพิ่มขึ้นด้วย

การศึกษาถึงวิธีการผสม OTC ในอาหารได้แก่ คลุกยาลงบนอาหารที่อัดเม็ดเช่นการศึกษาครั้งนี้ การผสมยาในอาหารก่อนอัดเม็ดโดยใช้เครื่องมืออัดเม็ดระดับใช้ในห้องปฏิบัติการ และอาหารที่ผสมยาแล้วอัดเม็ดจากโรงงาน ควรที่จะได้มีการศึกษาต่อไปอีก เพื่อใช้เป็นแนวทางในการผลิตอาหารยาซึ่งทำให้กุ้งได้รับปริมาณยาตามความเหมาะสม และมีการสูญเสียน้อย อันจะเป็นการรักษาสภาพสิ่งแวดล้อมให้ดีขึ้นและสนับสนุนการเลี้ยงกุ้งให้ยั่งยืนยิ่งขึ้น

3.5.2.2 การสูญเสียของออกซิเตตร้าซัยคลินจากอาหารกุ้ง

ระดับความเข้มข้นของ OTC และปริมาณความชื้นในอาหารก่อนการแช่น้ำ (เริ่มต้นการทดลอง) และหลังจากแช่น้ำนาน 3 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็มต่างๆ จากการวิเคราะห์ แสดงไว้ในตารางที่ 5 โดยที่พบว่าก่อนการแช่อาหารในน้ำ อาหารเบอร์ 4 และเบอร์ 5 มีระดับความเข้มข้นของ OTC เท่ากับ 3087.4 $\pm$ 152.16 ส่วนในล้านส่วน และ 1931.4 $\pm$ 213.97 ส่วนในล้านส่วน และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าอาหารที่แช่น้ำเป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง มีระดับความเข้มข้นของ OTC คงเหลือในปริมาณค่อนข้างน้อย คือในอาหารเบอร์ 4 ที่ระดับความเค็ม 0, 15, 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน มีค่าเท่ากับ 807.21 $\pm$ 37.72, 569.48 $\pm$ 39.11, 322.40 $\pm$ 15.02 และ 220.22 $\pm$ 10.81 ส่วนในล้านส่วน ในขณะที่อาหารเบอร์ 5 มีค่าเท่ากับ 992.89 $\pm$ 17.90, 918.85 $\pm$ 43.44, 848.63 $\pm$ 30.07 และ 810.83 $\pm$ 10.08 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าก่อนการแช่อาหารในน้ำอาหารเบอร์ 4 มีความเข้มข้นเฉลี่ยของ OTC มากกว่า เบอร์ 5 อย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าในทุกระดับความเค็ม ความเข้มข้นเฉลี่ยของ OTC ที่คงเหลือในอาหารเบอร์ 4 และ5 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เช่นเดียวกัน โดยที่อาหารเบอร์ 4 มีความเข้มข้นเฉลี่ยของ OTC ที่คงเหลือน้อยกว่า เบอร์ 5

ตารางที่ 5 ระดับความชื้นและความเข้มข้นของ OTC ในอาหาร ก่อนการแช่น้ำ และหลังจากแช่น้ำนาน 3 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็มต่างๆกัน[1]

สภาพอาหาร	ความเค็ม (ppt)	อาหารเบอร์ 4		อาหารเบอร์ 5	
		ความชื้น (%)	ความเข้มข้นของOTC* (ppm)	ความชื้น (%)	ความเข้มข้นของOTC* (ppm)
ก่อนแช่น้ำ		12.97 ± 0.12	3,087.4 ± 152.17^{x}	12.85 ± 0.10	1931.4 ± 213.97^{y}
หลังแช่น้ำ	0	51.19 ± 1.10	807.21 ± 37.72^{a}	54.38 ± 0.68	992.89 ± 17.90^{e}
	15	49.12 ± 0.65	569.48 ± 39.11^{b}	53.60 ± 0.39	918.85 ± 43.44^{f}
	30	52.19 ± 0.32	322.40 ± 15.02^{c}	51.60 ± 1.94	848.63 ± 30.07^{g}
	40	48.82 ± 0.60	220.22 ± 10.81^{d}	51.00 ± 0.68	810.83 ± 10.08^{h}

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* เป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่คำนวณบนฐานของน้ำหนักแห้ง

ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ OTC ในแถวแรกที่มีตัวอักษร (x-y) ต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ OTC ในแถวที่ 2-5 และสดมภ์เดียวกัน ที่มีตัวอักษร (a-d) เหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P \geq 0.05$)

จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าปริมาณการสูญเสียของ OTC ที่ผสมในอาหารกุ้งมีสาเหตุที่สำคัญได้แก่ จากการละลายในน้ำ ซึ่งมีการละลายของ OTC จากอาหารที่แช่ในน้ำจืด (ความเค็ม 0 ส่วนในพัน) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่คิดเป็นปริมาณที่ไม่น้อยกว่า 48 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณ OTC ที่มีในอาหาร และจะมีการสูญเสียของ OTC จากการละลายในปริมาณที่มากขึ้น เมื่ออาหารแช่อยู่ในน้ำที่มีความเค็มสูงขึ้น และอาหารที่มีขนาดของเม็ดอาหารเล็กกว่าจะมีการสูญเสียของ OTC จากการละลายในปริมาณที่มากกว่า สาเหตุอีกประการหนึ่งที่ทำให้เกิดการสูญเสียของ OTC ในการผสม OTC กับอาหาร คือกรรมวิธีหรือกระบวนการ ในการผสม OTC กับอาหารโดยการละลาย OTC ตามปริมาณที่ต้องการ (อัตรา OTC 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) ในน้ำกลั่นแล้วฉีดพ่นผสมกับอาหาร คลุกเคล้าให้ OTC ผสมกับอาหารอย่างทั่วถึงด้วยมือ จากนั้นเคลือบด้วยน้ำมันปลาในอัตรา 30 มิลลิลิตรต่ออาหาร 1 กิโลกรัม นั้น ก็มีส่วนทำให้เกิดการสูญเสียของ OTC ได้ง่าย ทั้งขั้นตอนของการผสม OTC กับอาหาร เนื่องจากปริมาตรของสารละลาย OTC ค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับปริมาณอาหารที่ใช้ ทำให้การฉีดพ่นสารละลาย OTC คลุกเคล้ากับเม็ดอาหารด้วยมือไม่ทั่วถึงดีพอ และในขณะที่ทำการคลุกเคล้าทำให้เม็ดอาหารบางส่วนแตก และหลุดร่วงไปทำให้เกิดการสูญเสีย OTC ไปส่วนหนึ่ง

นอกจากนี้การสูญเสียของ OTC ในการผสม OTC กับอาหารเกิดขึ้นจากความสามารถในการดูดซับ (absorption) OTC ของเม็ดอาหารที่แตกต่างกัน เห็นได้จากในการศึกษาครั้งนี้ อาหารเบอร์ 4 ซึ่งมีขนาด พื้นที่ผิวต่อปริมาตร มากกว่าอาหารเบอร์ 5 นั้น มีระดับความเข้มของ OTC ในอาหารที่มากกว่าทั้งที่ผสม OTC ในอัตราที่เท่ากัน เนื่องจากการที่ไม่สามารถทำให้ OTC กับอาหารผสมเป็นเนื้อเดียวกันได้ด้วยวิธีการผสมดังกล่าว ทำให้ OTC ส่วนใหญ่เคลือบอยู่เฉพาะผิวภายนอกของเม็ดอาหาร หรือซึมซับลงไปในเม็ดอาหารเพียงส่วนน้อยเท่านั้น ซึ่งมีผลต่อการละลายของ OTC ลงสู่น้ำในปริมาณค่อนข้างสูงดังที่กล่าวมาแล้ว แม้ว่าจะเคลือบด้วยน้ำมันปลาแล้วก็ตาม การสูญเสียของ OTC ในการผสมกับอาหารสามารถเกิดขึ้นได้จากสาเหตุอื่นได้ด้วยเช่นกัน เช่น คุณภาพของ OTC ที่ใช้ กล่าวคือปริมาณของตัวยาที่มีอยู่จริงไม่ครบถ้วนตามฉลาก หรือเอกสารกำกับยา ซึ่งพบว่า OTC ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีตัวยาเพียง 86.4 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น เมื่อนำมาผสมกับอาหารในอัตราดังกล่าวข้างต้น จึงมีส่วนทำให้ปริมาณ OTC ในอาหารต่ำกว่าความเป็นจริง

จากผลการศึกษาและสาเหตุการสูญเสียของ OTC ดังกล่าวข้างต้นที่นอกเหนือจากการการละลายแล้ว จะเห็นได้ว่าการสูญเสียของ OTC ในการผสมกับอาหารกุ้งโดยส่วนใหญ่เกิดขึ้นในขั้นตอนของการเตรียม OTC การเตรียมอาหาร และกรรมวิธีในการผสม OTC กับอาหาร 2 ขนาด คิดเป็นปริมาณที่มากกว่า 35 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณ OTC ที่ควรจะมีอยู่อย่างแท้จริง (5,000 ส่วนในล้านส่วน) ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Mohney และคณะ (1997) ที่พบว่าในการเตรียมอาหารผสม OTC ในอัตรา OTC 1,500 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม สามารถวิเคราะห์ปริมาณ OTC ในอาหารได้เท่ากับ 1,455 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งมีปริมาณการสูญเสียของ OTC ค่อนข้างน้อยมาก โดยมีการสูญเสียเพียง เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจากมีวิธีการผสม OTC กับอาหารที่แตกต่างกัน กล่าวคือเป็นการผสมจากโรงงาน และผสม OTC ลงในอาหารในปริมาณที่มีตัวยาที่แท้จริงตรงตามอัตราที่กำหนด