ภาคผนวก ก

สารเคมีและวิธีการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง

1. 1 การวิเคราะห์ความชื้น ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990)

1. นำขวดชั่งเข้าตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น
2. ชั่งและบันทึกน้ำหนักของขวดชั่งโดยละเอียด
3. ชั่งตัวอย่างใส่ขวดชั่งประมาณ 5 กรัม โดยบันทึกน้ำหนักอย่างละเอียด
4. นำตัวอย่างเข้าตู้อบ โดยใช้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง
5. นำตัวอย่างที่อบแล้วใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น บันทึกน้ำหนักของตัวอย่าง
6. ทำซ้ำตามข้อ 1 ถึง 5 จนน้ำหนักที่ได้คงที่ โดยน้ำหนักที่หายไปคือน้ำหนักของความชื้น

คำนวณ % ความชื้นด้วยสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ ความชื้น} = \frac{(a - b)}{w} \times 100$$

เมื่อ a = น้ำหนักของอาหารก่อนอบแห้ง
b = น้ำหนักของอาหารหลังอบแห้ง
w = น้ำหนักของอาหารก่อนอบ

1.2 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990)

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ
2. นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนเถ้าเป็นสีขาว

3. นำเข้าโถอบแห้ง เพื่อให้ดูดความชื้น และเมื่อตัวอย่างอาหารเย็นดีแล้ว นำออกชั่งทันที

คำนวณ % เถ้าด้วยสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า} = \frac{(b - a)}{W} \times 100$$

เมื่อ a = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบ

b = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบกับน้ำหนักของเถ้าภายหลังการเผา

w = น้ำหนักของอาหารก่อนเผา

1.3 การวิเคราะห์หาโปรตีน ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990)

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้น 93 – 98 เปอร์เซ็นต์

2. สารเร่งรวม (catalyst mixture) ชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) 7 กรัม กับโปแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 100 กรัม ผสมให้เข้ากัน

3. โซเดียมไฮดรอกไซด์45 เปอร์เซ็นต์ (NaOH) ละลาย 450 กรัม ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ชนิดเกล็ดลงในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

4. สารละลายกรดเกลือ 0.1 นอร์มอล ละลายกรดเกลือ 9 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

5. กรดบอริค (H_3BO_3) 4 เปอร์เซ็นต์ ต้มน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ให้ร้อน แล้วใส่ผงกรดบอริคลงไป 4 กรัม ต้มจนละลายหมดทิ้งไว้จนสารละลายเย็นลง แล้วจึงเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

6. อินดิเคเตอร์ผสมระหว่าง เมทธิลเรด และเมทธิลีนบลู ละลายเมทธิลเรด 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร และละลายเมทธิลีนบลู 0.2กรัม ในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายเมทธิลเรด 2 ส่วน ผสมกับสารละลายเมทธิลีนบลู 1 ส่วน เขย่าให้เข้ากัน

7. เมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์ (methyl orange indicator) ละลายเมทิลออเรนจ์ 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

8. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 0.1 นอร์มอล อบโซเดียมคาร์บอเนตที่อุณหภูมิ 260 – 270 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ชั่งสารมา1.325 กรัม เติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร

วิธีการ

ก. ขั้นตอนการย่อย (digestion)

1. ชั่งตัวอย่างอาหารให้ได้น้ำหนักประมาณ 1 กรัม โดยชั่งด้วยกระดาษกรองที่ปราศจากสารไนโตรเจนแล้วใส่ในขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีน

2. เติมสารเร่งรวม 10 กรัม เพื่อเป็นตัวช่วยเร่งปฏิกริยาการย่อย

3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร

4. นำไปย่อยด้วยชุดเครื่องย่อยโปรตีน ที่อุณหภูมิ 375 องศาเซลเซียส กระทั่งสารละลายในขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีนใส ทิ้งไว้ให้เย็น

ข. ขั้นตอนการกลั่น (distillation)

1. เมื่อสารละลายเย็นดีแล้ว จึงเติมน้ำกลั่นลงไปให้ได้ปริมาตรประมาณ 300 มิลลิลิตร

2. ใส่ลูกแก้ว 2 ลูก เพื่อป้องกันการกระแทกของสารละลาย

3. ต่อขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีนเข้ากับเครื่องกลั่นที่มีขวดปากแคบวัดปริมาตร ซึ่งมีกรดบอริค40 มิลลิลิตรอยู่โดยให้ปลายของหลอดแก้วที่ต่อจากกระบอกแก้วควบแน่นจุ่มอยู่ในกรดบอริคเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในขวดแก้ววิเคราะห์ช้า ๆ จนกระทั่งสารละลายมีสีดำ

4. ใส่อินดิเคเตอร์ในกรดบอริค 2 – 3 หยด

5. ทำการกลั่นจนไม่มีก๊าซแอมโมเนียออกมา แล้วทำการกลั่นต่อไปอีก 10 นาที แล้วล้างปลายเครื่องกลั่นด้วยน้ำกลั่น นำขวดปากแคบวัดปริมาตรออกจากเครื่องกลั่น

ค. ขั้นตอนการไตเตรท (titration)

1. นำไปไตเตรทด้วยกรดเกลือมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น0.1 นอร์มอล จนถึงจุดยุติ (end point) โดยใช้อินดิเคเตอร์รวม สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินอ่อน

2. จดปริมาตรของกรดเกลือไว้เพื่อคำนวณต่อไป

การคำนวณ

เปอร์เซ็นต์ โปรตีน = $\frac{1.4 \times (V_1 - V_2) \times N \times 6.25}{W}$

เมื่อ V_1 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

V_2 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบ

N = เป็นความเข้มข้นของกรดเกลือเป็นนอร์มอล

W = น้ำหนักตัวอย่างอาหาร

การตรวจหาความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน

ดูดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 40 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เติมเมทิลออเรนซ์ อินดิเคเตอร์ 2 – 3 หยด ทำการไตเตรทด้วยสารละลายกรดเกลือ 0.1 นอร์มอล คำนวณความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือโดยใช้สูตร

$$N_1 V_1 = N_2 V_2$$

1.4 การวิเคราะห์หาไขมัน (ใช้เครื่อง Soxtec System HT6) ตามวิธีของ AOAC (1990)

สารเคมี

1. สารละลายคลอโรฟอร์ม (chloroform)

2. เมทธานอล (methanol)

วิธีการ

1. อบถ้วยพร้อมลูกแก้วที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 8 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น

2. อบตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

3. ชั่งน้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้ว (w_1)

4. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ใส่กระดาษกรองประมาณ 1 – 2 กรัม (w_2) ห่อให้มิดชิดใส่ลงในไส้กรอง (thimble) ที่เตรียมไว้ นำไปใส่เข้าเครื่อง Soxtec System HT6

5. นำถ้วยพร้อมลูกแก้วที่ชั่งน้ำหนักไว้แล้วมาเติม คลอโรฟอร์ม : เมทานอล ในอัตราส่วน 2 : 1 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วใส่เข้าเครื่องให้เรียบร้อย

6. เปิดเครื่อง ปรับอุณหภูมิไปที่ 160 องศาเซลเซียส เปิดน้ำเข้าเครื่อง เปิดวาล์ว เลื่อนปุ่มไปที่ boiling ต้มให้เดือด 30 นาที

7. เลื่อนปุ่มไปที่ rinsing เพื่อล้างตัวอย่าง 20 นาที

8. ปิดวาล์ว เปิดสวิทซ์อากาศเลื่อนปุ่มไปที่ evaporation เพื่อให้สารระเหยออกไป 5 นาที

9. ปิดเครื่อง อากาศและน้ำ แล้วเลื่อนปุ่ม evaporation กลับที่เดิม นำถ้วยออกจากเครื่องแล้วนำไปอบที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน

10. นำถ้วยออกมาใส่โถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (w_3)

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไขมัน

$$\text{เปอร์เซ็นต์ ไขมัน} = \frac{w_3 - w_1}{w_2} \times 100$$

เมื่อ w_1 = น้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้ว

w_2 = น้ำหนักตัวอย่าง

w_3 = น้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้วและไขมันหลังอบ

2. การคำนวณหาค่าอัตราการรอดตายและการเจริญเติบโต

2.1 ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน (กรัมต่อตัวต่อ)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กุ้งกินทั้งหมด / จำนวนกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{เวลา (วัน)}}$$

2.2 อัตรารอด (%) ตามวิธีการของ Felix และ Sudharsan (2004)

$$= \frac{\text{จำนวนกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนกุ้งที่เริ่มทดลอง}} \times 100$$

2.3 อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Food conversion rate: FCR) ตามวิธีการของ Felix และ Sudharsan (2004)

$$= \frac{\text{จำนวนอาหารที่ให้ไปทั้งหมด (กรัม)}}{\text{น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}$$

2.4 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate: SGR) ตามวิธีการของ Ziaei-Nejad และคณะ (2006)

$$= \frac{(\ln \text{น้ำหนักสุดท้าย} - \ln \text{น้ำหนักเริ่มต้น})}{\text{เวลา (วัน)}} \times 100$$

2.5 น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มเฉลี่ยต่อตัว (เปอร์เซ็นต์ weight gain) ตามวิธีการของ Tapia-Salazar และคณะ (2004)

$$= \frac{(\text{น้ำหนักกุ้งสุดท้าย} - \text{น้ำหนักกุ้งเริ่มต้น})}{\text{น้ำหนักกุ้งเริ่มต้น}} \times 100$$

3. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ตามวิธีการของ Boyd และ Tucker (1992)

3.1 การวิเคราะห์ค่าความเป็นด่างของน้ำ

สารเคมี

1. ฟีนอล์ฟทาลีน อินดิเคเตอร์ (phenolphthalein indicator) : เตรียมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein) 0.5 กรัม ในเอทิลแอลกอฮอล์ 95 % จนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2. เมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์: เตรียมโดยสารละลายเมทิลออเรนจ์ 0.5 กรัม ในน้ำกลั่นที่ปราศจากอิออน ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3. เมทิลเรด อินดิเคเตอร์ : เตรียมโดยสารละลายเมทิลเรด 0.5 กรัม ในน้ำกลั่นที่ปราศจากอิออน ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

4. สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.2 นอร์มอล : เตรียมโดยค่อยๆ เทกรดซัลฟูริกเข้มข้น 6 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น (ที่ต้มเดือดใหม่ๆ แล้วปิดฝาทิ้งไว้ให้เย็น) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

5. สารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนต 0.2 นอร์มอล : เตรียมโดยชั่งโซเดียมคาร์บอเนตซึ่งอบแห้งจำนวน 10.6 กรัม โดยอบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที แล้วทำให้เย็นในโถอบแห้ง จากนั้นละลายในน้ำกลั่นที่ต้มเดือดใหม่ๆ วางไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

การตรวจหาความเข้มข้นของสารละลาย

1. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.2 นอร์มอล ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. หยดเมทิลเรด อินดิเคเตอร์ 5 หยด เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายสีเหลือง

3. ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู

4. นำส่วนผสมทั้งหมดไปต้มจนเดือดเป็นเวลาประมาณ 3-5 นาที เพื่อไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้หมดสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอีกครั้ง

5. ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกต่อไป จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอีกครั้งหนึ่ง

6. บันทึกปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกทั้งหมดที่ใช้ไป

การคำนวณความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก (นอร์มอล)

$$\text{ความเข้มข้น(นอร์มอล)} = \frac{0.2 \times 25}{\text{ปริมาตร (มิลลิลิตร) ของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้}}$$

หลังจากนั้นทำการปรับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.02 นอร์มอล โดยใช้สูตร

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

N_1 = ความเข้มข้นของสารละลายที่จะปรับค่า

N_2 = ความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ

V_1 = ปริมาตรของสารละลายที่จะปรับค่า

V_2 = ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการ

วิธีการ

1. นำตัวอย่างน้ำ 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. หยดฟีนอลฟ์ทาลีนอินดิเคเตอร์ 10 หยด เขย่าให้เข้ากัน

2.1 ถ้าสารละลายใส ให้ทำข้อ 3 ต่อไป

2.2 ถ้าสารละลายสีชมพูจะต้องไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกจนกระทั่งสารละลายสีชมพูนั้นหายไปบันทึกปริมาตรที่ใช้ไป (นำไปรวมกับปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ไปในข้อ 4) ทำต่อไปในข้อ 3.

3. หยดเมทิลออเรนจ์ 2-3 หยด เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายสีเหลือง

4. ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.02 นอร์มอล จนกระทั่งสารละลายปลี่ยนเป็นสีส้ม จนปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ไปทั้งหมด

การคำนวณค่าความเป็นด่างของน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

$$\text{ค่าความเป็นด่าง} = \frac{\text{ปริมาตรของกรดซัลฟูริกที่ใช้} \times \text{นอร์มอลิตี้ของกรดซัลฟูริก} \times 50 \times 1{,}000}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง}}$$

4. การศึกษาองค์ประกอบเลือด

4.1 การนับปริมาณเลือดทั้งหมด (Total haemocyte count)

สารเคมี

trypan blue 0.15 เปอร์เซ็นต์ : ละลาย trypan blue 0.15 กรัม ในสารละลาย NACl 2.5 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร คนให้ละลายโดยวางบน magnetic stirrer นาน 6-12 ชั่วโมง และกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 แบ่งใส่หลอดพลาสติกหลอดละ 0.45 มิลลิลิตร

วิธีการ

ใช้กระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร และเข็มฉีดยาขนาด 24 G ความยาว 12 มิลลิเมตร เจาะเลือดกุ้งบริเวณโคนขาเดินคู่ที่ 3 ปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร ใช้ปิเปตอัตโนมัติดูดเลือด 50 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย trypan blue 0.45 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันในหลอดพลาสติกนับเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมดโดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemacytometer) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แล้วคำนวณเป็นเซลล์ต่อมิลลิลิตรจากสูตร

ปริมาตรของฮีมาไซโตมิเตอร์ = กว้าง x ยาว x สูง

= 1mm x 1 mm x 0.1 mm

=0.1ลูกบาศก์มิลลิเมตร (mm^3)

จำนวนเซลล์เม็ดเลือด/ลูกบาศก์มิลลิเมตร = เซลล์เม็ดเลือดที่นับได้

จำนวนเซลล์เม็ดเลือด/มิลลิลิตร = เซลล์เม็ดเลือดที่นับได้ x 10^4

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในซีรัม ดัดแปลงจาก Lowry และคณะ (1951)

สารเคมี

1. สารละลาย BSA มาตรฐาน

ละลาย bovine serum albumin 1.0 มิลลิกรัม ในน้ำ deionized 10 มิลลิลิตร และเจือจางสารละลายข้างต้นด้วยน้ำ deionized ในหลอดทดลองให้มีความเข้มข้น 10-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. 1 N Folin-Phenol reagent (dilute 1:10)

3. Working alkaline copper reagent

3.1 2 เปอร์เซ็นต์ Na_2CO_3 ใน 0.1 N NaOH (เตรียมโดยต้มน้ำให้เดือดก่อนเติม) และต้องให้เย็นสนิทก่อน ส่วน NaOH 0.4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ร่วมกับ $NaCO_3$ 2 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรโดย Volummetric flask และเก็บในขวดพลาสติก

3.2 0.5 เปอร์เซ็นต์ $CuSO_4$ $5H_2O$ ใน 1 เปอร์เซ็นต์ Na หรือ K-tartrate โดยให้ละลายสารแต่ละตัวก่อน จากนั้นนำ $CuSO_4$ 5H2O

วิธีการ

เติมสารละลายส่วนใส (hemocyte lysate: HLS) ที่ได้จากการทำให้เซลล์เม็ดเลือดแตกปริมาตร 40 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตรที่มีน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน (deionized) 0.36 มิลลิลิตร เติม alkaline copper solution 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งให้เกิดปฏิกิริยานาน 10 นาที แล้วเติมสารละลาย folin reagent 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งให้เกิดปฏิกิริยานาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ตัวเทียบใช้น้ำที่ปราศจากไอออน (deionized) 0.4 มิลลิลิตร แทนตัวอย่าง แล้วคำนวณปริมาณโปรตีนโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานโบวีนซีรัมอัลบูมิน (Bovine serum albumin; BSA) สำหรับซีรัมเตรียมโดยใช้กระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร และเข็มฉีดยาขนาด 24 G ความยาว 12 มิลลิเมตรที่ไม่บรรจุสารป้องกันเลือดแข็งตัวเจาะเลือดกุ้งที่โคนขาเดินคู่ที่ 3 ให้ได้ประมาณ 0.2-0.3 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง บดเลือดที่แข็งตัวด้วยแท่งบดพลาสติก แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 10000

รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที ทำการแยกส่วนใสเพื่อนำไปวิเคราะห์โปรตีน จำนวน 5 ไมโครลิตร ลงในน้ำกลั่น deionized ปริมาตร 995 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลาย alkaline copper ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเติม folin reagent 3 มิลลิลิตร ทิ้งไว้อีก 10 นาทีแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 640 นาโนเมตร และคำนวณปริมาณโปรตีนโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน BSA

4.3 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในเลือด ดัดแปลงจาก Hyvarinen และ Nikkila, (1962)

สารเคมี

1. 3 เปอร์เซ็นต์ Trichloroacetic acid

ชั่ง 3 กรัม Trichloroacetic acid ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร

2. Color reagent

ชั่ง 1.5 กรัม Thiourea ละลายใน 940 มิลลิลิตร Glacial acetic acid แล้วเติม 60 มิลลิลิตร O-toluidine เก็บไว้ในตู้เย็น ระวังอย่าให้ถูกแสง

3. Benzoic acid solution

ชั่ง 0.2 กรัม Benzoic ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 1000 มิลลิลิตร

4. Standard glucose

ชั่ง 100 มิลลิกรัม Glucose ละลายใน 100 มิลลิลิตร Benzoic acid solution เก็บไว้ในตู้เย็น

วิธีการ

ใช้กระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร และเข็มฉีดยาขนาด 24 G ความยาว 12 มิลลิเมตร ที่ไม่บรรจุสารป้องกันเลือดแข็งตัว เจาะเลือดกุ้งที่โคนขาเดินคู่ที่ 3 ให้ได้ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ถ่ายในหลอดพลาสติกและทำการวิเคราะห์ทันที โดยเติมเลือด 0.1 มิลลิลิตร ในหลอดพลาสติกที่มีสารละลาย trichloro acetic acid (TCA) 3 เปอร์เซ็นต์ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทันที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 3,590x*g* อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที แยกส่วนใส 0.5 มิลลิลิตร เติมในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร ที่มี color reagent 4.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปแช่ในน้ำ

เดือด 8 นาที ตั้งไว้ให้เย็นและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร ตัวเทียบใช้สารละลาย trichloro acetic acid (TCA) 3 เปอร์เซ็นต์ 0.5 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่างแล้วคำนวณปริมาณกลูโคสในเลือดโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส

4.4 การเตรียมตัวอย่างเลือดสำหรับวิเคราะห์ค่าออสโมลาริตี้ และปริมาณอิเลคโทรไลต์ต่าง ๆ ในเลือด ตามวิธีการของ กิจการ และคณะ (2543)

วิธีการ

นำเลือดกุ้งขาวแต่ละตัวไปแยกเอาซีรัม โดยหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3590 g เพื่อนำซีรัมไปวิเคราะห์หาค่าออสโมลาริตี้ ด้วยเครื่อง Osmomat 030-D (Germany) หาค่าอิเลคโตรไลท์ (serum electrolyte) คือ Na^+ Cl^- K^+ และ Mg^{2+} โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ EAA ของ Beckman

ตารางภาคผนวกที่ ข. 4 คุณภาพน้ำในตู้ทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์[1]

วันที่	DO		pH		อัลคาไลน์นิตี้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)		แอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ไนเตรท (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	2 พีพีที	25 พีพีที	2 พีพีที	25 พีพีที	2 พีพีที	25 พีพีที	2 พีพีที	25 พีพีที	2 พีพีที	25 พีพีที	2 พีพีที	25 พีพีที
17 เมษายน 2549	8.2	8.6	7.91	8.00	66	86	0.03	0.02	0	0	-	-
9 พฤษภาคม 2549	7.9	8.1	8.68	8.04	60	104	0.14	0.03	0	0	-	-
1 มิถุนายน 2549	8.3	7.8	7.8	7.9	68	98	0.06	0.03	0.01	0.02	-	-
8 มิถุนายน 2549	7.8	7.6	8.24	8.18	78	108	0.06	0.02	0.01	0.05	0.02	0.08
ค่าที่เหมาะสม (กุ้งทะเล)	4-7	4-7	7.8-8.5	7.8-8.5	80-150	80-150	ไม่เกิน 1.00	ไม่เกิน 1.00	ไม่เกิน 0.10	ไม่เกิน 0.10	ไม่เกิน 60.00	ไม่เกิน 60.00

[1] วิเคราะห์ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสตูล

ตารางภาคผนวกที่ ข. 5 คุณภาพน้ำในบ่อทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์[1]

วันที่	DO	pH	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาไลน์นิตี้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	แอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไนเตรท (มิลลิกรัมต่อลิตร)
15 มกราคม – 29 มกราคม 2549	6.4	7.91	10	103	0	0	0
30 มกราคม – 6 กุมภาพันธ์ 2549	8	8.3	12	146	0.02	0.01	0.01
7 กุมภาพันธ์ – 21 กุมภาพันธ์ 2549	10	8.8	14	164	0.04	0.02	0.02

[1] วิเคราะห์ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสตูล

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ทางสถิติของผลการทดลอง

ตารางภาคผนวกที่ ค. 1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของการทดลองที่ 1

1.1 ความแปรปรวนของน้ำหนักสุดท้ายของกุ้งขาวที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	1.145	4	0.286	2.72	0.091
Within Groups	1.053	10	0.105		
Total	2.198	14			

Treat	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1	3	11.3600	
3	3	11.7267	11.7267
4	3	11.7900	11.7900
2	3	11.8367	11.8367
5	3		12.2267
Sig.		0.124	0.109

1.2 ความแปรปรวนของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกุ้งขาวที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	2031.067	4	507.767	2.535	0.106
Within Groups	2002.667	10	200.267		
Total	4033.733	14			

Treat	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1	3	404.0000	
2	3	420.0000	420.0000
3	3	420.0000	420.0000
4	3	425.0000	425.0000
5	3		440.3333
Sig.		0.121	0.132

1.3 ความแปรปรวนของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งขาวที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	0.03877	4	0.009693	1.979	0.174
Within Groups	0.04900	10	0.004900		
Total	0.08777	14			

Treat	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1	3	3.8500	
3	3	3.9100	3.9100
2	3	3.9167	3.9167
4	3	3.9433	3.9433
5	3		4.0067
Sig.		0.159	0.146

1.4 ความแปรปรวนของอัตราการรอดตายของกุ้งขาวที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	38.933	4	9.733	0.640	0.646
Within Groups	152.000	10	15.200		
Total	190.933	14			

Treat	N	Subset for alpha = 0.05
		1
2	3	94.6667
4	3	98.0000
5	3	98.0000
1	3	98.6667
3	3	99.3333
Sig.		0.207

1.5 ความแปรปรวนของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกุ้งขาวที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	0.022	4	0.0055	0.353	0.837
Within Groups	0.156	10	0.0156		
Total	0.178	14			

Treat	N	Subset for alpha = 0.05
		1
3	3	1.7500
4	3	1.7700
1	3	1.7967
5	3	1.8267
2	3	1.8567
Sig.		0.357

1.6 ความแปรปรวนของปริมาณอาหารที่กินของกุ้งขาวที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	0.003200	4	0.000800	1.395	0.304
Within Groups	0.005733	10	0.0005733		
Total	0.008933	14			

Treat	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1	3	0.3900
3	3	0.3967
4	3	0.4000
2	3	0.4167
5	3	0.4300
Sig.		0.089

1.7 ความแปรปรวนของความต้านทานเชื้อ *Vibrio harveyi* ระยะเวลา 10 วัน

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	19733.333	4	493.333	1.345	0.319
Within Groups	3666.667	10	366.667		
Total	5640.000	14			

Treat	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1	3	23.3333
2	3	36.6667
4	3	43.3333
3	3	50.0000
5	3	56.6667
Sig.		0.079

1.8 ความแปรปรวนของความสามารถในการกำจัดเชื้อ *Vibrio harveyi*

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	0.0000000014	4	362161000	8.416	0.003
Within Groups	0.0000000430	10	43033380.0		
Total	0.0000000019	14			

Treat	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	400.0000		
5	3	2300.000	2300.000	
3	3	3733.333	3733.333	
1	3		13333.33	
2	3			26833.33
Sig.		0.566	0.077	1.000

1.9 ความแปรปรวนและค่าสหสัมพันธ์ของค่าออสโมลาริตี้ในน้ำเลือดกุ้งขาว

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	503563.875	15	33570.925	49.698	0.00
Intercept	17739946.125	1	17739946.1	26261.95	0.00
Group	243869.125	3	81289.708	120.340	0.00
Time	120185.125	3	40061.708	59.307	0.00
Group*Time	139509.625	9	15501.069	22.948	0.00
Error	10808.00	16	675.500		
Total	18254318.00	32			
Corrected total	514371.875	31			

		Group	Time	Osmo
Group	Pearson Correlation	1.000	0.000	-0.120
	Sig. (2-tailed)	.	1.000	0.657
	N	16	16	16
Time	Pearson Correlation	0.000	1.000	0.842*
	Sig. (2-tailed)	1.000	.	0.000
	N	16	16	16
Osmo	Pearson Correlation	-0.120	0.842*	1
	Sig. (2-tailed)	0.657	0.000	.
	N	16	16	16

1.10 ความแปรปรวนและค่าสหสัมพันธ์ของค่าโซเดียมในน้ำเลือดกุ้งขาว

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	109417.875	15	7294.525	23.966	0.00
Intercept	3214380.125	1	3214380.125	10560.59	0.00
Group	54648.125	3	18216.042	59.847	0.00
Time	24413.125	3	8137.708	26.736	0.00
Group*Time	30356.625	9	3372.958	11.082	0.00
Error	4870.000	16	304.375		
Total	3328668.000	32			
Corrected total	114287.875	31			

		Group	Time	Sodium
Group	Pearson Correlation	1.000	0.000	-0.144
	Sig. (2-tailed)	.	1.000	0.595
	N	16	16	16
Time	Pearson Correlation	0.000	1.000	0.895*
	Sig. (2-tailed)	1.000	.	0.000
	N	16	16	16
Sodium	Pearson Correlation	-0.144	0.895*	1
	Sig. (2-tailed)	0.595	0.000	.
	N	16	16	16

1.11 ความแปรปรวนและค่าสหสัมพันธ์ของค่าคลอไรด์ในน้ำเลือดกุ้งขาว

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	98819.875	15	6587.992	64.117	0.00
Intercept	3465028.125	1	3465028.125	33722.90	0.00
Group	52545.125	3	17515.0.42	170.463	0.00
Time	21395.125	3	7131.708	69.408	0.00
Group*Time	24879.625	9	2764.403	26.904	0.00
Error	1644.00	16	102.750		
Total	3565492.00	32			
Corrected total	100463.875	31			

		Group	Time	Chloride
Group	Pearson Correlation	1.000	0.000	-0.120
	Sig. (2-tailed)	.	1.000	0.657
	N	16	16	16
Time	Pearson Correlation	0.000	1.000	0.918*
	Sig. (2-tailed)	1.000	.	0.000
	N	16	16	16
Chloride	Pearson Correlation	-0.120	0.918*	1.000
	Sig. (2-tailed)	0.657	0.000	.
	N	16	16	16

ตารางภาคผนวกที่ ค. 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของการทดลองที่ 2

2.1 ความแปรปรวนของน้ำหนักสุดท้ายของกุ้งขาวที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	9.114	5	1.823	6.893	0.001
Within Groups	4.760	18	0.264		
Total	13.875	23			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	9.114	5	1.823	6.893	0.001
Intercept	5333.009	1	5333.009	20165.78	0.000
Salinity	9.004	1	9.004	34.046	0.000
Group	0.06656	2	0.03328	0.126	0.883
Salinity*Group	0.04418	2	0.02209	0.084	0.920
Error	4.760	18	0.264		
Total	5346.884	24			
Corrected total	13.875	23			

2.2 ความแปรปรวนของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกุ้งขาวที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	863.968	5	172.794	6.960	0.001
Within Groups	446.893	18	24.827		
Total	1310.860	23			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	863.968	5	172.794	6.960	0.001
Intercept	50020.531	1	50020.531	2014.734	0.000
Salinity	858.608	1	858.608	34.583	0.000
Group	3.265	2	1.632	0.066	0.937
Salinity*Group	2.094	2	1.047	0.042	0.959
Error	446.893	18	24.827		
Total	51331.392	24			
Corrected total	1310.860	23			

2.3 ความแปรปรวนของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งขาวที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	0.224	5	0.045	6.332	0.001
Within Groups	0.127	18	0.007		
Total	0.351	23			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	0.224	5	0.04471	6.332	0.001
Intercept	18.904	1	18.904	2677.164	0.000
Salinity	0.220	1	0.220	31.216	0.000
Group	0.001900	2	0.0009500	0.135	0.875
Salinity*Group	0.001233	2	0.0006167	0.087	0.917
Error	0.127	18	0.007061		
Total	19.254	24			
Corrected total	0.351	23			

2.4 ความแปรปรวนของอัตราการรอดตายของกุ้งขาวที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	78.833	5	15.767	0.633	0.677
Within Groups	448.500	18	24.917		
Total	527.333	23			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	78.833	5	15.767	0.633	0.677
Intercept	222722.667	1	222722.667	8938.702	0.000
Salinity	1.500	1	1.500	0.060	0.809
Group	48.083	2	24.042	0.965	0.400
Salinity*Group	29.250	2	14.625	0.587	0.566
Error	448.500	18	24.917		
Total	223250.000	24			
Corrected total	527.333	23			

2.5 ความแปรปรวนของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกุ้งขาวที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	5.598	5	1.120	2.756	0.051
Within Groups	7.312	18	0.406		
Total	12.910	23			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	5.598	5	1.120	2.756	0.051
Intercept	201.087	1	201.087	495.005	0.000
Salinity	5.014	1	5.014	12.343	0.002
Group	0.477	2	0.238	0.587	0.566
Salinity*Group	0.107	2	0.0534	0.131	0.878
Error	7.312	18	0.406		
Total	213.996	24			
Corrected total	12.910	23			

2.6 ความแปรปรวนของปริมาณอาหารที่กินของกุ้งขาวที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	0.001	5	0.000	0.648	0.666
Within Groups	0.004	18	0.000		
Total	0.005	23			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	0.0007833	5	0.0001567	0.648	0.666
Intercept	1.859	1	1.859	7693.517	0.000
Salinity	0.00001667	1	0.00001667	0.069	0.796
Group	0.0004083	2	0.0002042	0.845	0.446
Salinity*Group	0.0003583	2	0.0001792	0.741	0.490
Error	0.004350	18	0.0002417		
Total	1.864	24			
Corrected total	0.005133	23			

2.7 ความแปรปรวนของปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 2 พีพีที และ 25 พีพีที

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	1435.164	5	287.033	1.064	0.395
Within Groups	10523.08	39	269.823		
Total	11958.24	44			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	1435.164	5	287.033	1.064	0.395
Intercept	227351.824	1	227351.824	842.598	0.000
Salinity	912.502	1	912.502	3.382	0.074
Group	232.722	2	116.361	0.431	0.653
Salinity*Group	286.020	2	143.010	0.530	0.593
Error	10523.080	39	269.823		
Total	245310.250	45			
Corrected total	11958.244	44			

2.8 ความแปรปรวนของปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 2 พีพีที และ 25 พีพีที

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	32.719	5	6.544	0.147	0.980
Within Groups	1514.551	34	44.546		
Total	1547.270	39			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	32.719	5	6.544	0.147	0.980
Intercept	13956.447	1	13956.447	313.307	0.000
Salinity	3.863	1	3.863	0.087	0.770
Group	2.894	2	1.447	0.032	0.968
Salinity*Group	29.601	2	14.800	0.332	0.720
Error	1514.551	34	44.546		
Total	16263.317	40			
Corrected total	1547.270	39			

2.9 ความแปรปรวนของโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 2 พีพีที และ 25 พีพีที

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	939.796	5	187.959	0.785	0.567
Within Groups	9335.887	39	239.382		
Total	10275.68	44			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	939.796	5	187.959	0.785	0.567
Intercept	1265114.749	1	1265114.749	5284.927	0.000
Salinity	119.658	1	119.658	0.500	0.484
Group	479.482	2	239.741	1.002	0.377
Salinity*Group	236.952	2	118.476	0.495	0.613
Error	9335.887	39	239.382		
Total	1302297.027	45			
Corrected total	10275.683	44			

2.10 ความแปรปรวนของปริมาณออสโมลาริตี้ของกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 2 พีพีที และ 25 พีพีที

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	28982.00	5	5796.400	23.404	0.001
Within Groups	1486.00	6	247.667		
Total	30468.00	11			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	28982.000	5	5796.400	23.404	0.001
Intercept	5779632.000	1	5779632.000	23336.33	0.000
Salinity	27840.333	1	27840.333	112.410	0.000
Group	24.50	2	12.25	0.049	0.952
Salinity*Group	1117.167	2	558.583	2.255	0.186
Error	1486.000	6	247.667		
Total	5810100.000	12			
Corrected total	30468.000	11			

2.11 ความแปรปรวนของปริมาณโซเดียมในกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 2 พีพีที และ 25 พีพีที

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	9858.750	5	1971.750	35.904	0.000
Within Groups	329.500	6	54.917		
Total	10188.25	11			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	9858.750	5	1971.750	35.904	0.000
Intercept	1099890.750	1	1099890.750	20028.36	0.000
Salinity	8374.083	1	8374.083	152.487	0.000
Group	829.500	2	414.750	7.552	0.023
Salinity*Group	655.167	2	327.583	5.965	0.037
Error	329.500	6	54.917		
Total	1110079.000	12			
Corrected total	10188.250	11			

2.12 ความแปรปรวนของปริมาณโพแทสเซียมในกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 2 พีพีที และ 25 พีพีที

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	3.765	5	0.753	3.940	0.063
Within Groups	1.147	6	0.191		
Total	4.912	11			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	3.765	5	0.753	3.940	0.063
Intercept	804.422	1	804.422	4208.144	0.000
Salinity	3.467	1	3.467	18.136	0.005
Group	0.221	2	0.111	0.579	0.589
Salinity*Group	0.07715	2	0.03858	0.202	0.823
Error	1.147	6	0.191		
Total	809.334	12			
Corrected total	4.912	11			

2.13 ความแปรปรวน และค่าสหสัมพันธ์ของปริมาณเม็ดเลือดรวมเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 2 พีพีที เป็น 40 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	13105.20	11	1191.382	3.913	0.000
Within Groups	20701.29	68	304.431		
Total	33806.49	79			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	13105.199	11	1191.382	3.913	0.000
Intercept	441454.067	1	441454.067	1450.097	0.000
Salinity	2372.947	2	1186.473	3.897	0.025
Group	5432.421	3	1810.807	5.948	0.001
Salinity*Group	4908.331	6	818.055	2.687	0.021
Error	20701.289	68	304.431		
Total	480961.000	80			
Corrected total	33806.488	79			

		Group	Time	THC
Group	Pearson Correlation	1.000	-0.040	0.154
	Sig. (2-tailed)	.	0.724	0.173
	N	80	80	80
Time	Pearson Correlation	-0.040	1.000	-0.024
	Sig. (2-tailed)	0.724	.	0.835
	N	80	80	80
THC	Pearson Correlation	0.154	-0.024	1
	Sig. (2-tailed)	0.173	0.835	.
	N	80	80	80

2.14 ความแปรปรวน และค่าสหสัมพันธ์ของปริมาณกลูโคสในกุ้งขาวเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 2 พีทีเป็น 40 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	1650.523	11	150.048	2.437	0.015
Within Groups	3385.947	55	61.563		
Total	5036.470	66			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	1650.523	11	150.048	2.437	0.015
Intercept	42948.404	1	42948.404	697.637	0.000
Group	23.063	2	11.532	0.187	0.830
Time	1434.420	3	478.140	7.767	0.000
Group *Time	178.330	6	29.722	0.483	0.818
Error	3385.947	55	61.563		
Total	49240.997	67			
Corrected total	5036.470	66			

		Group	Time	Glucose
Group	Pearson Correlation	1.000	0.026	0.078
	Sig. (2-tailed)	.	0.836	0.533
	N	67	67	67
Time	Pearson Correlation	0.026	1	0.442*
	Sig. (2-tailed)	0.836	.	0.000
	N	67	67	67
Glucose	Pearson Correlation	0.078	0.442*	1
	Sig. (2-tailed)	0.533	0.000	.
	N	67	67	67

2.15 ความแปรปรวน และค่าสหสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีนในกุ้งขาวเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 2 พีทีเป็น 40 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	70266.49	11	6387.862	27.012	0.000
Within Groups	17972.39	76	236.479		
Total	88238.88	87			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	70266.485	11	6387.862	27.012	0.000
Intercept	1286470.583	1	1286470.583	5440.109	0.000
Group	1115.874	2	557.937	2.359	0.101
Time	66622.152	3	22207.384	93.909	0.000
Group *Time	795.219	6	132.537	0.560	0.760
Error	17972.391	76	236.479		
Total	1441009.950	88			
Corrected total	88238.876	87			

		Group	Time	Protein
Group	Pearson Correlation	1.000	-0.003	0.058
	Sig. (2-tailed)	.	0.979	0.589
	N	88	88	88
Time	Pearson Correlation	-0.003	1.000	-0.670*
	Sig. (2-tailed)	0.979	.	0.000
	N	88	88	88
Protein	Pearson Correlation	0.058	-0.670	1.000
	Sig. (2-tailed)	0.589	0.000	.
	N	88	88	88

2.16 ความแปรปรวน และค่าสหสัมพันธ์ของปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็ม จาก 25 พีทีเป็น 2 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	29859.26	11	2714.478	6.448	0.000
Within Groups	20207.48	48	420.989		
Total	50066.73	59			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	29859.255	11	2714.478	6.448	0.000
Intercept	441560.057	1	441560.057	1048.863	0.000
Group	11910.662	2	5955.331	14.146	0.000
Time	10752.542	3	3584.181	8.514	0.000
Group *Time	5518.978	6	919.830	2.185	0.061
Error	20207.478	48	420.989		
Total	511895.000	60			
Corrected total	50066.733	59			

		Group	Time	THC
Group	Pearson Correlation	1.000	-0.025	0.467*
	Sig. (2-tailed)	.	0.851	0.000
	N	60	60	60
Time	Pearson Correlation	-0.025	1.000	0.015
	Sig. (2-tailed)	0.851	.	0.909
	N	60	60	60
THC	Pearson Correlation	0.467*	0.015	1.000
	Sig. (2-tailed)	0.000	0.909	.
	N	60	60	60

2.17 ความแปรปรวน และค่าสหสัมพันธ์ ของปริมาณกลูโคสในกุ้งขาวเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 25 พีทีเป็น 2 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	2971.071	11	270.097	5.140	0.000
Within Groups	1996.800	38	52.547		
Total	4967.871	49			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	2971.071	11	270.097	5.140	0.000
Intercept	36209.232	1	36209.232	689.078	0.000
Group	650.828	2	325.414	6.193	0.005
Time	1905.010	3	635.003	12.084	0.000
Group *Time	435.323	6	72.554	1.381	0.247
Error	1996.800	38	52.547		
Total	40501.918	50			
Corrected total	4967.871	49			

		Group	Time	Glucose
Group	Pearson Correlation	1.000	-0.005	-0.130
	Sig. (2-tailed)	.	0.970	0.368
	N	50	50	50
Time	Pearson Correlation	-0.005	1.000	0.596*
	Sig. (2-tailed)	0.970	.	0.000
	N	50	50	50
Glucose	Pearson Correlation	-0.130	0.596*	1.000
	Sig. (2-tailed)	0.368	0.000	.
	N	50	50	50

2.18 ความแปรปรวน และค่าสหสัมพันธ์ ของปริมาณโปรตีนในกุ้งขาวเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 25 พีทีเป็น 2 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	18957.97	11	1723.452	5.572	0.000
Within Groups	19175.30	62	309.279		
Total	38133.27	73			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	18957.970	11	1723.452	5.572	0.000
Intercept	2741414.826	1	2741414.826	8863.890	0.000
Group	2617.711	2	1308.855	4.232	0.019
Time	15371.365	3	5123.788	16.567	0.000
Group *Time	1483.443	6	247.240	0.799	0.574
Error	19175.296	62	309.279		
Total	2814230.056	74			
Corrected total	38133.266	73			

		Group	Time	Protein
Group	Pearson Correlation	1.000	0.010	-0.233*
	Sig. (2-tailed)	.	0.933	0.046
	N	74	74	74
Time	Pearson Correlation	0.010	1.000	0.408*
	Sig. (2-tailed)	0.933	.	0.000
	N	74	74	74
Protein	Pearson Correlation	-0.233*	0.408*	1.000
	Sig. (2-tailed)	0.046	0.000	.
	N	74	74	74

2.19 ความแปรปรวน และค่าสหสัมพันธ์ ของปริมาณออสโมลาริตี้ในกุ้งขาวเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็ม จาก 2 พีทีเป็น 40 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	879557.3	11	79959.758	108.029	0.000
Within Groups	8882.000	12	740.167		
Total	888439.3	23			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	879557.333	11	79959.758	108.029	0.000
Intercept	21942112.667	1	21942112.7	29644.83	0.000
Group	2794.083	2	1397.042	1.887	0.194
Time	856519.000	3	285506.333	385.732	0.000
Group *Time	20244.250	6	3374.042	4.558	0.012
Error	8882.000	12	740.167		
Total	22830552.000	24			
Corrected total	888439.333	23			

		Group	Time	Osmo
Group	Pearson Correlation	1.000	0.000	-0.008
	Sig. (2-tailed)	.	1.000	0.969
	N	24	24	24
Time	Pearson Correlation	0.000	1.000	0.915*
	Sig. (2-tailed)	1.000	.	0.000
	N	24	24	24
Osmo	Pearson Correlation	-0.008	0.915*	1.000
	Sig. (2-tailed)	0.969	0.00	.
	N	24	24	24

2.20 ความแปรปรวน และค่าสหสัมพันธ์ ของปริมาณโพแทสเซียมในกุ้งขาวเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็ม จาก 2 พีทีเป็น 40 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	7.401	11	0.673	2.741	0.049
Within Groups	2.945	12	0.245		
Total	10.346	23			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	7.041	11	0.673	2.741	0.049
Intercept	1619.998	1	1619.998	6600.786	0.000
Group	1.229	2	0.615	2.504	0.123
Time	3.796	3	1.265	5.156	0.016
Group *Time	2.376	6	0.396	1.613	0.226
Error	2.945	12	0.245		
Total	1630.344	24			
Corrected total	10.346	23			

		Group	Time	Potass
Group	Pearson Correlation	1.000	0.000	-0.040
	Sig. (2-tailed)	.	1.000	0.854
	N	24	24	24
Time	Pearson Correlation	0.000	1.000	0.601*
	Sig. (2-tailed)	1.000	.	0.002
	N	24	24	24
Potass	Pearson Correlation	-0.040	0.601*	1.000
	Sig. (2-tailed)	0.854	0.002	.
	N	24	24	24

2.21 ความแปรปรวน และค่าสหสัมพันธ์ ของปริมาณโซเดียมในกุ้งขาวเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็ม จาก 2 พีทีเป็น 40 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	261367.5	11	23760.682	41.999	0.000
Within Groups	6789.000	12	565.750		
Total	268156.5	23			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	261367.500	11	23760.682	41.999	0.000
Intercept	4747261.500	1	4747261.500	8391.094	0.000
Group	1170.250	2	585.125	1.034	0.385
Time	249103.167	3	83034.389	146.769	0.000
Group *Time	11094.083	6	1849.014	3.268	0.038
Error	6789.000	12	565.750		
Total	5015418.000	24			
Corrected total	268156.500	23			

		Group	Time	Sodium
Group	Pearson Correlation	1.000	0.000	-0.057
	Sig. (2-tailed)	.	1.000	0.791
	N	24	24	24
Time	Pearson Correlation	0.000	1.000	0.894**
	Sig. (2-tailed)	1.000	.	0.000
	N	24	24	24
Sodium	Pearson Correlation	-0.057	0.894**	1.000
	Sig. (2-tailed)	0.791	0.000	.
	N	24	24	24

2.22 ความแปรปรวน และค่าสหสัมพันธ์ ของปริมาณออสโมลาริตี้ในกุ้งขาวเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็ม จาก 25 พีทีเป็น 2 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	139979.8	11	12725.439	50.431	0.000
Within Groups	3028.000	12	252.333		
Total	143007.8	23			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	139979.833	11	12725.439	50.431	0.000
Intercept	9223120.167	1	9223120.167	36551.33	0.000
Group	215.583	2	107.792	0.427	0.662
Time	137516.500	3	45838.833	181.660	0.000
Group *Time	2247.750	6	374.625	1.485	0.263
Error	3028.000	12	252.333		
Total	9366128.000	24			
Corrected total	143007.833	23			

		Group	Time	Osmo
Group	Pearson Correlation	1.000	0.000	-0.038
	Sig. (2-tailed)	.	1.000	0.859
	N	24	24	24
Time	Pearson Correlation	0.000	1.000	-0.931*
	Sig. (2-tailed)	1.000	.	0.000
	N	24	24	24
Osmo	Pearson Correlation	-0.038	-0.931*	1.000
	Sig. (2-tailed)	0.859	0.000	.
	N	24	24	24

2.23 ความแปรปรวน และค่าสหสัมพันธ์ของปริมาณโพแทสเซียมในกุ้งขาวเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็ม จาก 25 พีทีเป็น 2 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	63.340	11	5.758	9.036	0.000
Within Groups	7.647	12	0.637		
Total	70.987	23			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	63.340	11	5.758	9.036	0.000
Intercept	871.095	1	871.095	1366.950	0.000
Group	0.764	2	0.382	0.599	0.565
Time	59.063	3	19.688	30.895	0.000
Group *Time	3.513	6	0.586	0.919	0.514
Error	7.647	12	0.637		
Total	942.082	24			
Corrected total	70.987	23			

		Group	Time	Potass
Group	Pearson Correlation	1.000	0.000	0.060
	Sig. (2-tailed)	.	1.000	0.780
	N	24	24	24
Time	Pearson Correlation	0.000	1.000	-0.766*
	Sig. (2-tailed)	1.000	.	0.000
	N	24	24	24
Potass	Pearson Correlation	0.060	-0.766*	1.000
	Sig. (2-tailed)	0.780	0.000	.
	N	24	24	24

2.24 ความแปรปรวน และค่าสหสัมพันธ์ ของปริมาณโซเดียมในกุ้งขาวเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็ม จาก 25 พีทีเป็น 2 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

Source	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	35644.50	11	3240.409	70.700	0.000
Within Groups	550.000	12	45.833		
Total	36194.50	23			

Source	Type III Sum of squares	df	Mean square	F	Sig.
Corrected model	35644.500	11	3240.409	70.700	0.000
Intercept	1707733.500	1	1707733.500	37259.64	0.000
Group	117.250	2	58.625	1.279	0.314
Time	34028.167	3	11342.722	247.478	0.000
Group *Time	1499.083	6	249.847	5.451	0.006
Error	550.000	12	45.833		
Total	1743928.000	24			
Corrected total	36194.500	23			

		Group	Time	Sodium
Group	Pearson Correlation	1.000	0.000	0.057
	Sig. (2-tailed)	.	1.000	0.793
	N	24	24	24
Time	Pearson Correlation	0.000	1.000	-0.849**
	Sig. (2-tailed)	1.000	.	0.000
	N	24	24	24
Sodium	Pearson Correlation	0.057	-0.849**	1.000
	Sig. (2-tailed)	0.793	0.000	.
	N	24	24	24