



<https://li01.tci-thaijo.org/index.php/pajrmu/index>

## บทความวิจัย

# ผลการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกในอาหารต่อการเจริญเติบโต และคุณภาพลูกกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ระยะโพสลาร์วา

ยุพรัตน์ อินบำรุง<sup>1</sup> อรุณทิพย์ จินตสถาพร<sup>1\*</sup> ศรีน้อย ชุ่มคำ<sup>2</sup> ศุภวิทย์ ไตรวุฒานนท์<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10900

<sup>2</sup>คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี 13180

<sup>3</sup>คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140

## ข้อมูลบทความ

### Article history

รับ: 19 พฤษภาคม 2566

แก้ไข: 14 สิงหาคม 2566

ตอบรับการตีพิมพ์: 19 สิงหาคม 2566

ตีพิมพ์ออนไลน์: 4 กันยายน 2566

## คำสำคัญ

กรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก

กุ้งขาวแวนนาไม

ระยะโพสลาร์วา

คุณภาพลูกกุ้ง

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกที่ระดับ 0, 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ในอาหารสำหรับลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์วา PL9-PL25 ผลการวิจัย พบว่า กรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกที่ได้จากพืช มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio parahaemolyticus* AHPND ได้ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกที่ระดับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารกุ้ง พบว่า กุ้งขาวแวนนาไม ระยะ PL25 มีการเจริญเติบโต ความยาวลำตัว  $15.75 \pm 0.95$  มิลลิเมตร และน้ำหนักตัว  $0.028 \pm 0.00$  กรัม และมีระดับคุณภาพที่  $95.67 \pm 1.15$  เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกับกลุ่มควบคุม (0 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ส่วนอัตราการรอดตายมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 89.96-93.91 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอัตราการรอดตายเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงความเค็มและความทนทานต่อฟอร์มาลิน มีค่าอยู่ในช่วง 98.33-99.67% และไม่พบการติดเชื้อก่อโรคตายด่วนและโรคสีชมพู แต่พบการติดเชื้อเอนเทอโคซ็อนเฮปาทอปেনาอี (*Enterocytozoon hepatopenaei*, EHP) ดังนั้น การเสริมด้วยกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก 0.4 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต เพิ่มคุณภาพของกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์วา และส่งเสริมความทนทานต่อความเครียดในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงความเค็มและความทนทานต่อฟอร์มาลิน โดยยังคงมีคุณภาพสูงกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ แม้อยู่ภายใต้สภาวะการติดเชื้อ EHP

## บทนำ

กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) เป็นสัตว์น้ำที่มีการพัฒนาสายพันธุ์อย่างต่อเนื่อง เพื่อให้สามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย เจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีช่วงความเค็มกว้าง ปัจจัยที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมให้ประสบผลสำเร็จ ได้แก่ คุณภาพของลูกพันธุ์อาหาร และการจัดการฟาร์ม ซึ่งแต่ละปัจจัยมีความสัมพันธ์กันอย่างต่อเนื่อง ในช่วงที่ผ่านมามีการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมประสบกับภาวะการเกิดโรค ในช่วง 10-14 วันแรกของการลงเลี้ยงในบ่อดิน (Munkongwongsiri et al., 2013) แนวทางในการลดความเสี่ยงจากสถานการณ์นี้ คือ การเลือกใช้ลูกพันธุ์ที่ปลอดโรคและมีคุณภาพ จะช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคระหว่างเลี้ยงได้ หากมีการจัดการฟาร์มอย่างเหมาะสม หรือแม้แต่การเติมหรือเคลือบสารบางชนิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหรือต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคลงในอาหารกุ้ง เช่น วิตามินซี กรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก และสมุนไพรไทย เป็นต้น เพื่อช่วยให้การเจริญเติบโตของกุ้งดีขึ้น และลดสภาวะความเครียดที่ทำให้กุ้งอ่อนแอเสี่ยงต่อการเกิดโรคได้ระหว่างการอนุบาลในอัตราความหนาแน่นสูง (Puycha & Tane, 2014) ในปัจจุบันมีงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้สารเสริมบางชนิดในอาหารสำหรับ

การเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม เช่น วิตามินซี ที่ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้ทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ การใช้กระเทียม พบสารสำคัญจำพวกกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และยังมีสารอัลลิซิน (allicin) และสารอะโจอิน (ajoene) ที่มีฤทธิ์ในการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส (Thawonsuwan et al., 2010; Chirawithayaboon et al., 2020) และการใช้กรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก ที่มีคุณสมบัติเป็นสารธรรมชาติ เนื่องจากส่วนใหญ่พบได้ในพืช และยังสามารถสังเคราะห์ขึ้นมาจากจุลินทรีย์ได้ (Jorgensen, 2005; Jannoey et al., 2010) ซึ่งมีความปลอดภัย ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์น้ำ ต่อสภาพแวดล้อม และต่อผู้บริโภค ทั้งยังมีคุณสมบัติของสารสำคัญจำพวกฟลาโวนอยด์ ในการช่วยลดสารอนุมูลอิสระที่เป็นพิษ โดยยับยั้งความผิดปกติของสารสื่อประสาทอันเกิดจากความเครียด ช่วยกระตุ้นต่อมไร้ท่อให้ผลิตฮอร์โมนช่วยในการเจริญเติบโต ช่วยเพิ่มความอยากอาหาร การกินอาหาร (Wu et al., 2016) การนำสารอาหารไปสะสมในเนื้อเยื่อหรือเซลล์ต่าง ๆ เป็นการเสริมสร้างและซ่อมแซมส่วนต่าง ๆ ในร่างกาย บำรุงหรือลดการทำลายตับและตับอ่อนเมื่อเกิดความเครียด ยังช่วยให้ลูกกุ้งสามารถทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มและความทนทานต่อฟอร์มาลิน

\*Corresponding author

E-mail address: ffora@ku.ac.th (O.Jintataporn)

Online print: 4 September 2023 Copyright © 2023. This is an open access article, production, and hosting by Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University. <https://doi.org/10.14456/paj.2023.22>

อย่างฉับพลันได้ (Xie et al., 2017) และยังเพิ่มการสร้างกล้ามเนื้อ (Zhang et al., 2021) ทั้งยังควบคุมพลังงานให้สมดุลอยู่เสมอ (Van den Pol, 2003) กระตุ้นภูมิคุ้มกัน สามารถทนทานต่อความเข้มข้นของแอมโมเนียสูงได้ (Liang et al., 2022) สามารถควบคุมสภาวะน้ำตาลในเลือดได้ และในกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก พบสารไตรเทอร์พีนไกลโคไซด์ (triterpene glycosides) ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบและยีสต์ได้ (Abdel-Naime et al., 2019) และยังสามารถใช้ทดแทนการใส่ยาปฏิชีวนะได้อีกด้วย (Bae et al., 2022)

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านทานเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระดับที่แตกต่างกันในอาหาร ต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย คุณภาพลูกกุ้ง ความสมบูรณ์ของตัว ความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มและความทนทานต่อฟอร์มาลินอย่างฉับพลันของลูกกุ้งขาวแวนนาไม เพื่อเป็นแนวทางในการปรับปรุงคุณภาพลูกกุ้งให้ดีขึ้น และสามารถต้านทานต่อเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* AHPND ในช่วงเดือนแรกของการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

### สัตว์ทดลอง

ลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์วา (PL9) ฟาร์มเอกชน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม  
อาหารทดลอง

อาหารกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์วา เป็นอาหารเม็ดชนิดจมเชิงการค้า ที่มีความเข้มข้นโภชนะระดับโปรตีนไม่น้อยกว่า 39 เปอร์เซ็นต์ ไขมันไม่น้อยกว่า 7 เปอร์เซ็นต์

### กรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก

ชนิดที่ 1 เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบคทีเรียที่ผลิตกรดแล็กติก

ชนิดที่ 2 เป็นสมุนไพรผสมของพืชจำพวก Hawthorn กลุ่ม Valerian และพืชชนิดอื่น ๆ เช่น ฮ็อพ (Hops) พืชในวงศ์กัญชา (Cannabaceae) และสะระแหน่ (Lemon balm)

การทดลองที่ 1. การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านทานเชื้อแบคทีเรียก่อโรค โดยศึกษากรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก 2 ชนิด คือ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแล็กติก และสารสกัดจากพืช

ดำเนินการศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกด้วยวิธี DPPH radical scavenging, ABTS assay, Ferrous ion chelating activity และ Folin-Ciocalteu method (Dinis et al., 1994; Manok & Limcharoen, 2015; Srimoon & Niyomwan, 2021) และศึกษาการยับยั้งเชื้อก่อโรค *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio harveyi*, *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus agalactiae* โดยวิธี agar disc diffusion (Khan et al., 2007) อ่านผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณวงใสที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (inhibition zone) โดยวัดหน่วยเป็นมิลลิเมตร

การทดลองที่ 2 การศึกษาการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกที่ระดับแตกต่างกันในอาหารมีผลต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และคุณภาพลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์วา

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) 3 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ โดยใช้อาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนไม่น้อยกว่า 39 เปอร์เซ็นต์ เป็นอาหารชนิดเกล็ดจมเชิงการค้า คลุกผสมกับกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกชนิดที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง และมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ซึ่งได้จากการทดลองที่ 1 โดยคลุกผสมที่ระดับความเข้มข้น 0 (อาหารกลุ่มควบคุม) 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ แล้วเคลือบด้วยพุลูลแลน (pullulan) ซึ่งมีคุณสมบัติในการเชื่อมยึด (adhesive property) ได้ดี แผ่นฟิล์มของพุลูลแลนสามารถป้องกันการผ่านเข้าออกของออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์กับตัวอาหารได้ (Farris et al., 2014) เคลือบในอัตราส่วน 20 มิลลิกรัมต่ออาหารสำเร็จรูป 1 กิโลกรัม นำไปเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะ PL13 ที่ผ่านการปรับสภาวะแล้ว จำนวน 20,000 ตัวต่อบ่อ จำนวน 9 บ่อ ขนาดบ่อ 2x2x1 เมตร ปริมาตร 2,000 ลูกบาศก์เมตร ให้อาหารวันละ 6 ครั้ง ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำและดูดตะกอนของเสียทุกวัน ทำการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และคุณภาพลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะ PL9 (ก่อนการทดลอง) PL13 (เริ่มการทดลอง) และ PL25 (สิ้นสุดการทดลอง) เก็บข้อมูลการเติบโตและอัตราการรอดตาย ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างลูกกุ้งจำนวน 100 ตัว มาชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว และสุ่มเก็บตัวอย่างจำนวน 20 ตัว วัดความยาว (total length) ด้วยเวอร์เนียคาร์ลิปเปอร์ เพื่อหาความยาวเฉลี่ย (Department of Fisheries, 2018)

เก็บข้อมูลสุขภาพเพื่อวิเคราะห์คุณภาพลูกกุ้งขาวแวนนาไม ทำการทดสอบความทนทานต่อความเครียด โดยการแช่น้ำจืด สุ่มเก็บตัวอย่างจำนวน 100 ตัว มาแช่น้ำจืด ทั้งไว้ 30 นาที แล้วทำการตรวจนับการรอดตายของลูกกุ้ง พิจารณาตามเกณฑ์ของกรมประมง ระบุว่าลูกกุ้งที่แข็งแรง สามารถปรับสมดุลของแร่ธาตุได้ ควรมียออัตราการรอดตายไม่น้อยกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบการแช่ฟอร์มาลิน สุ่มเก็บตัวอย่างจำนวน 100 ตัว มาแช่น้ำฟอร์มาลินความเข้มข้น 100 ส่วนในพันส่วน ทั้งไว้ 30 นาที แล้วตรวจนับการรอดตายของลูกกุ้ง พิจารณาตามเกณฑ์ประเมินของกรมประมงที่ระบุไว้ว่า ลูกกุ้งขาวแวนนาไมที่มีความแข็งแรงทางสรีระในการปรับตัวต่อความเครียดที่เพิ่มขึ้นอย่างฉับพลัน ควรมียออัตราการรอดตายไม่น้อยกว่า 95 เปอร์เซ็นต์

ทดสอบคุณภาพลูกกุ้งขาวแวนนาไม ดัดแปลงตามวิธี ชริมพ์โอบโอเทค (Ruchirawat & Vaikrudha, 2003) โดยสุ่มเก็บตัวอย่างลูกกุ้งจำนวน 20 ตัว ทำการตรวจให้คะแนนความสมบูรณ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า (10X) แบ่งออกเป็นจำนวนกรี ความยาวตัว ความสมบูรณ์ของรยางค์ ปลีตภายนอก อัตราการกลืนเนื้อต่อลำไส้ (M:G ratio) ปริมาณเม็ดไขมันในตับและความสมบูรณ์ของตับลูกกุ้ง สรุปผลการให้คะแนนเป็นเปอร์เซ็นต์ มาตรฐานการยอมรับ สำหรับขั้นตอนการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ควรมีคะแนนการตรวจตั้งแต่ 85 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จึงจะถือว่าผ่านเกณฑ์มาตรฐาน (Department of Fisheries, 2018)

ทดสอบคุณภาพลูกกุ้งขาวแวนนาไมด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา โรคที่ตรวจวินิจฉัย ได้แก่ โรคตายด่วน (Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome, AHPND) โรคตัวแดงดวงขาว (white spot syndrome virus, WSSV) (Department of Fisheries, 2018) โดยนำตัวอย่างลูกกุ้งไม่น้อยกว่า 150 ตัว ตัดส่วนหัวออก เพื่อแยกส่วนตากุ้งซึ่งมีสารยับยั้งปฏิกิริยา PCR ทำการบดให้ละเอียด ซึ่งตัวอย่าง 1 กรัม นำไปสกัดสารพันธุกรรม โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป DNAzol® Reagent แล้วจึงนำมาตรวจด้วยเทคนิค nested PCR โดยใช้ primer 2 คู่ (Songkhla Aquatic Animal Health Research Center, 2018) ตรวจสอบการติดเชื้อไมโครสปอริเดีย (*Enterocytozoon hepatopenaei*, EHP) นำเฉพาะส่วนตับ/ตับอ่อน โดยเฉพาะในตำแหน่งที่อยู่ติดกับกระเพาะอาหาร วางบนแผ่นสไลด์ หยดน้ำกลั่น 1 หยด ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ลักษณะสปอร์ของ EHP จะมีรูปร่างกลม และรูปร่างคล้ายรักบี้ มีขนาด 1-2 ไมโครเมตร ซึ่งต้องใช้กำลังขยาย 1000 เท่า (1000x) (Department of Fisheries, 2018)

#### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกที่ได้จากวิธี DPPH radical scavenging, ABTS assay, Ferrous ion chelating activity และ Folin-Ciocalteu method มาเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี independent sample T-test และนำข้อมูลเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และคุณภาพลูกกุ้งขาวแวนนาไม มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติโดย analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดลองโดยใช้ค่าสถิติ Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

#### ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

**ผลการทดลองที่ 1. การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านทานเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ของกรดแกมมาอะมิโน บิวทีริก 2 ชนิด คือ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแล็กติก และสารสกัดจากพืช**

จากผลการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกด้วยวิธี DPPH, ABTS, Ferrous ion chelating activity และ Folin-Ciocalteu (Table 1) พบว่ากรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกชนิดที่ 2 ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากพืช มีความเข้มข้นที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลงร้อยละ 50 (IC<sub>50</sub>) เท่ากับ 0.359±0.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยค่า IC<sub>50</sub> แปรผกผันกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ แสดงว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกชนิดที่ 2 จากพืช สูงกว่ากรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกชนิดที่ 1 ที่ได้จากการหมักของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแล็กติก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ค่า IC<sub>50</sub> ที่ได้นั้น ขึ้นกับส่วนของพืชที่นำมาสกัด เช่น ใบ ผล ดอก เป็นต้น และสารที่ใช้ในการสกัด เช่น น้ำ เอทานอล คลอโรฟอร์ม เป็นต้น (Bahri et al., 2019; Keser et al., 2014; Lyu et al., 2022; Proestos & Komaitis, 2009) และความสามารถในการจับกับไอออนของโลหะมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และ

กรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกชนิดที่ 2 มีปริมาณฟีนอลิกรวม น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

สารสกัดจากพืชจำพวก Hawthorn กลุ่ม Valerian และพืชชนิดอื่น ๆ เช่น ฮ็อพ พืชในวงศ์กุยชา และสะระแหน่ มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง ลดการทำลายของเซลล์ ลดความเครียดกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้ทำงานอย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น อันเนื่องมาจาก สารประกอบสำคัญที่อยู่ในพืช อาทิเช่น ในพืช Hawthorn (*Crataegus monogyna*) จะพบสารประกอบฟีนอลิก กลุ่ม flavonoids, vitamin c, glycoside, anthocyanin, tannin, saponin, protoanthocyanidins จำแนกได้ว่าเป็น cyanidin-3-O-galactoside ที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้อย่างชัดเจนกว่ากลุ่มอื่น ๆ (Bahorun et al., 1996; Froehlicher et al., 2009) โดยขึ้นกับสารที่นำมาสกัดตัวอย่างอีกด้วย (Kostic et al., 2012) จากรายงานการวิจัยในกุ้งขาวแวนนาไม พบว่า การใช้สารสกัดจากพืชที่มีคุณสมบัติออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ มีด้วยกันหลากหลายชนิดพืช เช่น ผงมังคุด น้ำมันมะพร้าวผสมไขมันอ้อย กระเจี๊ยบ กระเทียม ใบพลู ใบชะคราม ใบแปะก๊วย เป็นต้น ซึ่งสมุนไพรดังกล่าว พบสารสำคัญโดยเฉพาะสารกลุ่ม flavonoids ทั้งยังมี anthocyanin, tannins, hydroxychavicol และ eugenol และสารในกลุ่มอัลคาลอยด์อีกด้วย (Liao et al., 2023; Onsanit et al., 2020; Pawana et al., 2017; Penprapai et al., 2017)

จากผลการศึกษาฤทธิ์การต้านทานเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพบว่า กรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกชนิดที่ 2 ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *V. parahaemolyticus* บนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ TCBS ได้ โดยมีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางการเกิดบริเวณใส เท่ากับ 7.33±0.58 มิลลิเมตร ในขณะที่กรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกชนิดที่ 1 นั้น ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 7 ชนิดได้ จากรายงานวิจัยของ Yu et al. (2022) พบว่า น้ำมันหอมระเหยจาก *Melissa officinalis* ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ได้ นั้นอาจแสดงว่า ในกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกชนิดที่ 2 มี *M. officinalis* เป็นองค์ประกอบบางส่วน แต่ไม่สามารถระบุความเข้มข้นได้ และมีรายงานว่า เป็นสารที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Escherichia coli* (Tadic et al., 2008) ในพืช Lemon balm (*M. officinalis*) มีสารประกอบเป็นอนุพันธ์ของกรดฟีนอลิก flavonoids, triterpenoid และ phenolic acids โดยเฉพาะสาร triterpene glycosides ที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยังมีความสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบและยีสต์ได้ (Abdel-Naime et al., 2019) นอกจากนี้ ยังมีรายงานการวิจัยที่สอดคล้องกับการใช้สารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์การต้านทานเชื้อแบคทีเรียก่อโรคต่อกุ้งขาวแวนนาไมอย่างหลากหลาย อาทิเช่น ฟาโทะลายโจร มีสารแอนโดรกราโฟไลด์ (Andrographolide) ที่อยู่ในกลุ่ม Lactone มีฤทธิ์ต้านทานเชื้อแบคทีเรีย และไวรัส (Yin et al., 2022) ในกระเทียม มีสารอัลโลซิน และสารอะโจอิน มีคุณสมบัติต้านทานเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส โดยเมื่อผสมกับอาหารให้กับกุ้ง สามารถทนทานต่อเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้ อีกทั้งยังสามารถส่งเสริมภูมิคุ้มกันได้ (Thawonsuwan et al., 2010; Chirawithayaboon et al., 2020) ในกระเจี๊ยบมีสาร anthocyanin

มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *V. parahaemolyticus*, *P. aeruginosa* ได้ (Gonelimali et al., 2018) ดำริยาเขียว ที่มีส่วนประกอบเป็นสมุนไพรหลายชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. parahaemolyticus*, *A. hydrophila* และ *V. harveyi* ถึงแม้จะสกัดด้วยน้ำก็ให้ค่าเฉลี่ยการยับยั้งใกล้เคียงกับการใช้ยาปฏิชีวนะ tetracycline (30 ไมโครกรัม) (Srithaworn et al., 2015) และในกระเจียบ และชาเขียวญี่ปุ่น มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้เช่นกัน (Tummarongkongsatit, 2007) ผลการทดลองที่ 2 ผลการศึกษาการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกที่ระดับแตกต่างกันในอาหาร ต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และคุณภาพลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์วา

ผลการเติบโตของลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาร์วา (PL) ที่ได้รับการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกในอาหารสำเร็จรูประดับแตกต่างกัน (Table 2) พบว่า ลูกกุ้ง ระยะ PL25 ที่ได้รับการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกในอาหารระดับ 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยความยาวตัว  $15.67 \pm 1.38$  และ  $15.75 \pm 0.95$  มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ขณะที่น้ำหนักเฉลี่ยของลูกกุ้ง ระยะ PL25 ที่ได้รับการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกในอาหารระดับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ  $0.028 \pm 0.00$  กรัม ซึ่งมีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) กับลูกกุ้งที่ได้รับการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกในระดับ 0 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสำเร็จรูป แต่อัตราการรอดตายแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) โดยมีค่าเท่ากับ  $90.98 \pm 3.37$ ,  $93.91 \pm 7.54$  และ  $89.96 \pm 4.99$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงได้ว่า กรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกจะช่วยลดสารอนุมูลอิสระที่เป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสำคัญจำพวกฟลาโวนอยด์ ช่วยกระตุ้นต่อมไร้ท่อให้ผลิตฮอร์โมนช่วยในการเจริญเติบโต ช่วยเพิ่มความอยากอาหาร การกินอาหาร (Wu et al., 2016) ส่งเสริมให้สัตว์น้ำมีประสิทธิภาพในการใช้สารอาหารดีขึ้น (Cherubini et al., 1991) นำสารอาหารไปสะสมในเนื้อเยื่อหรือเซลล์ต่าง ๆ เป็นการเสริมสร้างและซ่อมแซมส่วนต่าง ๆ ในร่างกาย (Xie et al., 2017) ดังเช่นรายงานผลการศึกษาในสัตว์น้ำ พบว่า การเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก อัตราส่วน 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารกุ้งขาวแวนนาไม จะช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตได้มากที่สุด และสามารถทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะได้อีกด้วย (Bae et al., 2022)

จากรายงานการศึกษาของ Xie et al. (2017) พบว่า การเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารกุ้งขาวแวนนาไมสูตรปลาป่นต่ำ สามารถช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของกุ้ง และส่งเสริมการปรับตัวให้มีความทนทานต่อแอมโมเนีย ได้อย่างเหมาะสม รายงานการศึกษาในปลาของ Wu et al. (2016) พบว่า การเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกที่ความเข้มข้น 87.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารของปลาฉา (*Ctenopharyngodon idella*) ระยะ juvenile ช่วยเพิ่มอัตราการเติบโตที่จำเพาะต่อวัน อย่างมีนัยสำคัญ และควบคุมการแสดงออกของยีน NPY และ ghrelin ได้อย่างเหมาะสม สอดคล้องกับการเสริมด้วยกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก อัตราส่วน 158 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในอาหารปลานิล ช่วยปรับปรุงการเจริญเติบโต โดยระดับของเอนไซม์ aspartate amino-transferase (AST) ลดลง ซึ่งระดับของเอนไซม์นี้เป็นตัวบ่งชี้

การทำงานของตับและตับอ่อนของกุ้ง หากมีระดับสูงขึ้น นั้นแสดงถึงการเสื่อมของเซลล์ หรือมีความผิดปกติของตับและตับอ่อนเกิดขึ้น และเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase activity, SOD) เพื่อกระตุ้นการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน และสามารถต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียได้ (Temu et al., 2019) นอกจากนี้ มีรายงานการวิจัยที่สอดคล้องกับการใช้สารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์การต้านทานอนุมูลอิสระและต้านทานเชื้อแบคทีเรียก่อโรคต่อกุ้งขาวแวนนาไมอย่างหลากหลาย อาทิเช่น การเสริมสารสกัดหญ้าไต้ใบ (*Phyllanthus urinaria*) ที่มีศักยภาพในการส่งเสริมสุขภาพ บำรุงตับและตับอ่อน มีส่วนช่วยในการเสริมภูมิคุ้มกัน เสริมการต้านอนุมูลอิสระ และต้านทานโรค AHPND ได้ (Charoendat et al., 2021) การเสริมอาหารกุ้งขาวแวนนาไมด้วยสารสกัดสาหร่ายสไปรูลีนา ซึ่งจะมีการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตาย (Keawtawee et al., 2019)

ผลการทดสอบความทนทานต่อความเครียดโดยการแช่น้ำจืด ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมของกุ้งขาวแวนนาไมได้ โดยพบว่า กุ้งระยะ PL25 ที่ได้รับการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกในระดับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสำเร็จรูป มีอัตราการรอดตายสูงสุด คือ  $99.33 \pm 1.15$  เปอร์เซ็นต์ รองลงมา กุ้งที่ได้รับการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกในระดับ 0.2 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีอัตราการรอดตาย  $98.67 \pm 1.15$  และ  $98.33 \pm 0.58$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีอัตราการรอดตายแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และเมื่อทดสอบโดยการแช่ฟอร์มาลิน เป็นการทดสอบความแข็งแรงทางสรีระในการปรับตัวต่อความเครียดที่เพิ่มขึ้นอย่างฉับพลันของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่า ลูกกุ้ง ระยะ PL25 ที่ได้รับการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกในระดับ 0, 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสำเร็จรูป มีอัตราการรอดตาย  $98.67 \pm 0.58$ ,  $99.67 \pm 0.58$  และ  $99.67 \pm 0.58$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีอัตราการรอดตายแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ส่วนลูกกุ้ง ระยะ PL13 และ PL9 มีอัตราการรอดตายอยู่ในช่วง 95.33-98.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการรอดตายไม่น้อยกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นไปตามเกณฑ์ประเมินของกรมประมง จากผลการทดสอบความทนทานต่อความเครียดของกุ้ง ระยะ PL9 ระบบต่าง ๆ ในร่างกายมีความสมบูรณ์น้อยกว่าระยะอื่น จึงมีอัตราการรอดตายในการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อม การปรับสมดุลของแร่ธาตุ และการปรับตัวต่อความเครียดที่เพิ่มขึ้นอย่างฉับพลันได้น้อยกว่าระยะอื่น ๆ (Department of Fisheries, 2018) เมื่อศึกษาการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนไปจากสภาวะเปลี่ยนแปลงแบบฉับพลัน และจากสภาวะที่มีความเข้มข้นของเชื้อก่อโรคสูง จะพบว่า การเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกในอาหารกุ้งขาวแวนนาไมจะช่วยลดความเครียดที่เกิดขึ้นได้ โดยจะช่วยยับยั้งสารสื่อประสาทที่ผิดปกติอันเนื่องมาจากความเครียด ยังช่วยลดสารอนุมูลอิสระที่เป็นพิษต่อเซลล์หรือเนื้อเยื่อ กระตุ้นภูมิคุ้มกันให้สามารถทนทานต่อสภาวะที่เปลี่ยนแปลง ส่งผลให้มีอัตราการรอดตายสูงขึ้น สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Xie et al. (2017) พบว่า การเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารกุ้งขาวแวนนาไมสูตรปลาป่นต่ำ จะช่วยให้น้ำหนักกุ้งเพิ่มขึ้น ค่าดัชนีตับ (Hepatosomatic index) และการเจริญเติบโตดีขึ้น อัตราการรอด

ตายเพิ่มขึ้น อีกทั้งยังช่วยกระตุ้นฮอร์โมนและภูมิคุ้มกัน ลดความเครียดที่เกิดขึ้นเมื่อสภาวะแวดล้อมเปลี่ยนแปลง โดยเฉพาะเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียสูง สามารถทนต่อความเข้มข้นสูงนั้นได้ โดยพิจารณาจากอัตราการรอดตายที่มากขึ้นกว่าการไม่ได้เสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกในอาหาร นอกจากนี้ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเชื้อ *V. alginolyticus* กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารเสริมด้วยกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก 175.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีอัตราการรอดตายสูงขึ้น ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต พร้อมทั้งสามารถแทนที่การใช้ยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงกุ้งได้ (Bae et al., 2022) แม้แต่ในสภาวะการอดอาหาร น้ำตาลในเลือดของปูดำ เมื่อทำการฉีดกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกจะสามารถควบคุมสภาวะสมดุลของกลูโคสในเม็ดเลือดแดง และควบคุมระดับการแสดงออก mRNA ของฮอร์โมนน้ำตาลในเลือดสูงของครัสเตเชียน (CHH) และไพรวेटไคเนส (PK) ได้ (Zhang et al., 2021) เมื่อพิจารณาการเสริมด้วยกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกนี้ให้ผลสอดคล้องกับการใช้สมุนไพรในการเลี้ยงสัตว์น้ำ เช่น การใช้กัญชาพันธุ์ (Picrothiza kurroa) ซึ่งมีฤทธิ์ลดความเครียดของกุ้ง และอาหารที่ผสมด้วยสารสกัดจากตัวอึ่ง (*Rheum officinale*) ความเข้มข้น 0.1-0.2 เปอร์เซ็นต์ ช่วยป้องกันความเครียดจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นได้ (Liu et al., 2010) จากผลการทดสอบคุณภาพลูกกุ้งตามวิธี ชิมิฟิโอบีโธเทค (Table 3) พบว่า ลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะ PL9 และ PL13 มีค่าคะแนนคุณภาพเท่ากับ  $69.67 \pm 8.08$  และ  $84.00 \pm 2.64$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งระยะ PL9 มีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานลูกกุ้งคุณภาพของกรมประมงที่แนะนำไว้ (Department of Fisheries, 2018) เนื่องจากพัฒนาการของระบบต่าง ๆ เช่น เหนือก และตับ ยังไม่สมบูรณ์ ส่งผลให้ไม่สามารถปรับสมดุลของแร่ธาตุและน้ำในร่างกายจากการเปลี่ยนแปลงความเค็มได้ ในปัจจุบันถึงแม้กรมประมงจะมีการควบคุมการผลิตลูกพันธุ์กุ้งให้ได้คุณภาพและปลอดโรคแล้วนั้น แต่ยังคงมีโรงเพาะฟักและอนุบาลบางส่วนไม่ได้ดำเนินการทดสอบคุณภาพลูกกุ้งก่อนขายให้แก่เกษตรกร ส่งผลให้คุณภาพลูกกุ้งบางส่วนนั้นมีความไม่เหมาะสมแก่การปล่อยลงเลี้ยง และมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคได้ง่าย หลังจากลูกกุ้งระยะ PL13-PL25 ได้รับการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกในระดับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ในอาหารสำเร็จรูป มีคุณภาพลูกกุ้งคิดเป็น  $95.67 \pm 1.15$  เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีคุณภาพแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อทำการแยกเป็นคะแนนแต่ละเกณฑ์ จะพบว่า กุ้งขาวแวนนาไม ระยะ PL25 ที่ได้รับการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกในอาหารสำเร็จรูประดับ 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ มีความสมบูรณ์และความสะอาดของลำตัวและรยางค์ คิดคะแนนคุณภาพเป็น  $14.67 \pm 0.58$  และ  $15.00 \pm 0.00$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีปริมาณเม็ดไขมัน  $18.67 \pm 2.31$  และ  $20.00 \pm 0.00$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับกุ้งที่ได้รับการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกในอาหารสำเร็จรูประดับ 0 เปอร์เซ็นต์ แสดงได้ว่า กรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกมีความสามารถในการควบคุมความอยากอาหาร การกินอาหาร (Wu et al., 2016) การนำสารอาหารไปใช้สะสมในเนื้อเยื่อหรือเซลล์ต่าง ๆ ของสัตว์น้ำ การปรับ microbiome ในลำไส้ ควบคุมสภาวะต่าง ๆ ภายในร่างกาย ให้ปกติคงที่ เมื่อเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกในอาหารสัตว์น้ำเป็นการเสริมสร้างและซ่อมแซมส่วนต่าง ๆ ในร่างกาย ให้มีสุขภาพ

ของตับดีขึ้น ส่งผลให้มีการเจริญเติบโต ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง ลดสารอนุมูลอิสระ และกระตุ้นให้กึ่งเกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เป็นการเตรียมความพร้อมในการรับมือกับเชื้อก่อโรคที่จะบุกรุกเข้ามาในระหว่างการเลี้ยง (Ngo et al., 2019) ดังนั้น จึงเป็นการเพิ่มคุณภาพของลูกกุ้งให้สูงมากขึ้นได้ (Bae et al., 2022; Xie et al., 2017) และแม้แต่การเสริมกรดแกมมา อะมิโนบิวทีริกในอาหารปลาเฉา หรือปลากินหญ้า (*C. idellus*) ให้ผลสอดคล้องกัน โดยเมื่อผสมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก 87.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารปลา ทำให้อัตราการเติบโตจำเพาะมีค่าสูงสุด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น ทำให้ malondialdehyde ลดลงได้ (Wu et al., 2016)

มีการใช้สมุนไพรและสารสกัดเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะในกุ้งขาวแวนนาไม เช่น สารแอลลิซิน ที่อยู่ในกระเทียมสด เมื่อเสริมในอาหารจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการ phagocytosis ทำให้ทนต่อการติดเชื้อโรคต่าง ๆ (Boonta et al., 2012) สาร glycosides, saponins, flavonoids, alkaloids, lignans และ tannins สกัดจากหญ้าไต่ใบหรือลูกไต่ใบ ผสมกับอาหารจะทำให้ระดับเอนไซม์ aspartate aminotransferase และ alanine aminotransferase ลดลง แปรผกผันกับระดับความเข้มข้นของสารสกัด ส่งผลให้ตับและตับอ่อนกุ้งมีสุขภาพดีขึ้น และค่า phagocytic activity เพิ่มขึ้น (Charoendat et al., 2021) สาร polyvinylpyrrolidone ที่สกัดได้จากพญายอ (*Clinacanthus nutans*) มีปริมาณเม็ดเลือดรวม กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส และความต้านทานเชื้อแบคทีเรียและไวรัสเพิ่มขึ้น (Direkbusarakom et al., 1996) กุ้งที่ได้รับสารกลุ่ม phenolic alkenone สกัดจากขิง (*Zingerone officinale*) โดยการผสมอาหารให้กิน มีปริมาณเม็ดเลือดรวม กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส และความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียและไวรัสตัวแดงดวงขาวเพิ่มขึ้น (Chang et al., 2012) น้ำมันมะพร้าวผสมสารสกัดจากขมิ้นอ้อย มีสารประกอบเคอร์คูอยด์ ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีองค์ประกอบเป็นกรดไขมันที่ง่ายต่อการดูดซึม ใช้เป็นส่วนผสมในอาหารกุ้งขาวแวนนาไมจะส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และภูมิคุ้มกันสูงขึ้น (Penprapai et al., 2017)

เมื่อทดสอบคุณภาพลูกกุ้งขาวแวนนาไมด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา (Table 3) พบว่า ลูกกุ้งระยะ PL9 PL13 และ PL25 ที่ได้รับการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกในระดับ 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสำเร็จรูปไม่พบการติดเชื้อก่อโรคตายด่วน (AHPND) และเชื้อตัวแดงดวงขาว (WSSV) อาจเนื่องมาจากการควบคุมคุณภาพลูกกุ้งก่อนปล่อยลงเลี้ยง การจัดการคุณภาพพ่อแม่เลี้ยงที่ดี และการใช้อาหารที่มีคุณภาพดีอย่างเหมาะสม (Munkongwongsiri et al., 2013; Boonyawiwat et al., 2017; Department of Fisheries, 2019) และมีรายงานการศึกษาของ Wu et al. (2016) ได้เสริมสารสกัดจากใบพืช *Gynura bicolor* ในอาหารกุ้งขาวแวนนาไม พบว่าสามารถต้านเชื้อ *V. alginolyticus* และเชื้อไวรัส WSSV ได้ และการเสริมสาหร่ายสไปรูลินาสดในอาหาร สามารถเพิ่มความต้านทานต่อการติดเชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ในลูกกุ้งได้ (Keawtawee et al., 2019) แต่เมื่อทำการทดสอบการติดเชื้อไมโครสปอริเดีย (EHP) ภายในตับและตับอ่อนของกุ้งขาวแวนนาไม

ในทุกกระยะ มีการติดเชื้อ EHP โดยพบสปอร์ของเชื้อมากกว่า 10 สปอร์ ซึ่งอ่านผลการติดเชื้อในระดับ ++++ เป็นระดับที่มีการติดเชื้อ EHP ในบ่อเลี้ยง กุ้งอาจได้รับเชื้อจากการกินสปอร์ EHP ที่มีอยู่ในน้ำ ช่วงก่อนการทดลอง (PL9) จำนวนสปอร์ที่พบไม่สามารถบ่งบอกความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคที่เกิดได้ ขึ้นกับระยะการเจริญของเชื้อ (Chuchird et al., 2016) พบการขยายพันธุ์ของเชื้อภายในตัวและตัวอ่อนเป็นจำนวนมาก และมีการหลุดลอกออกมาพร้อมสิ่งขับถ่ายสะสมวนเวียนภายในบ่อเลี้ยง (Songkhla Aquatic Animal Health Research Center, 2022) ในปัจจุบันมีการวิจัยและพัฒนาเพื่อหาสารหรือยาที่ฆ่าเชื้อได้ โดยมีการศึกษาหาสารสมุนไพรที่มีสารสำคัญเป็นสารซัลเฟตโพลีแซคคาไรด์และสารซัลเฟตกาแลคแทน มีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งตระกูล *Penaeus* ในกระบวนจดจำ ขบวนการจับกินเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอม (phagocytosis) และการสร้าง melanin สามารถยับยั้งการติดเชื้อ *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi* ได้ (Kamble et al., 2022; Rudtanatip et al., 2018)

### สรุปผลการวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้พบว่า การเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกที่ได้จากการพืชจำพวก Hawthorn กลุ่ม Valerian และพืชชนิดอื่น ๆ

เช่น ฮ็อพ พืชในวงศ์กุยชา และสะระแหน่ ที่มีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ให้ผลการยับยั้งแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร เมื่อทำการเสริมกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก ระดับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสำเร็จรูป สามารถช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และส่งผลให้คุณภาพของลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะ PL25 สูงที่สุด โดยมีคุณภาพลูกกุ้งคิดเป็นคะแนน  $95.67 \pm 1.15$  เปอร์เซ็นต์ (ระดับสูงกว่าค่ามาตรฐาน 90 เปอร์เซ็นต์)

### กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ กองวิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง ที่อนุเคราะห์วิเคราะห์โรคสัตว์น้ำด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา และวิธีทางจุลชีววิทยา และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และนิสิตปริญญาตรี และนิสิตปริญญาโท ห้องปฏิบัติการโภชนาการศาสตร์อาหารสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ที่อนุเคราะห์การเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์ต่าง ๆ การศึกษานี้เป็นการศึกษาภายใต้โครงการพัฒนาวิชาการ 062/65 ของมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์

**Table 1** Antioxidant properties of each type of  $\gamma$  aminobutyric acid (GABA)

| Antioxidant properties                          | GABA type I             | GABA type II            | p-value |
|-------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|---------|
| DPPH assay IC <sub>50</sub> (mg/mL)             | 1.114±0.21 <sup>a</sup> | 0.359±0.32 <sup>b</sup> | 0.022   |
| ABTS assay IC <sub>50</sub> (mg/mL)             | 0.044±0.00 <sup>a</sup> | 0.044±0.00 <sup>a</sup> | 0.266   |
| Ferrous ion chelating activity (%)              | 2.053±0.67 <sup>a</sup> | 1.446±0.42 <sup>a</sup> | 0.072   |
| Total phenolic content (mg GAE/g crude extract) | 4.37±0.15 <sup>a</sup>  | 3.29±0.12 <sup>b</sup>  | 0.000   |

Note: <sup>ab</sup> in the same row with different superscripts are significantly different (p<0.05).

GABA Type I is a product obtained by the fermentation of lactic acid bacteria.

GABA Type II is an herbal blend of hawthorn, valerian and other plants such as hops, cannabis and lemon balm.

**Table 2** Growth performance of Pacific white leg shrimp larvae fed with 0%, 0.2% and 0.4%  $\gamma$ -aminobutyric acid in commercial diets

| Growth performance     | 0% GABA                   | 0.2% GABA                  | 0.4% GABA                | p-value |
|------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|---------|
| Total length (mm) PL9  | 8.75±0.55                 | -                          | -                        | -       |
| PL13                   | 10.80±1.15 <sup>a</sup>   | 10.80±1.15 <sup>a</sup>    | 10.80±1.15 <sup>a</sup>  | 1.000   |
| PL25                   | 14.31±0.79 <sup>b</sup>   | 15.67±1.38 <sup>a</sup>    | 15.75±0.95 <sup>a</sup>  | 0.003   |
| Length gain (%)        | 132.48±7.33 <sup>b</sup>  | 145.05±12.74 <sup>a</sup>  | 145.84±8.78 <sup>a</sup> | 0.003   |
| Body weight (g/PL) PL9 | 0.006±0.001               | -                          | -                        | -       |
| PL13                   | 0.010±0.001 <sup>a</sup>  | 0.010±0.001 <sup>a</sup>   | 0.010±0.001 <sup>a</sup> | 1.000   |
| PL25                   | 0.022±0.001 <sup>b</sup>  | 0.024±0.002 <sup>ab</sup>  | 0.028±0.000 <sup>a</sup> | 0.023   |
| Weight gain (%)        | 215.67±12.61 <sup>b</sup> | 239.70±15.35 <sup>ab</sup> | 283.56±1.78 <sup>a</sup> | 0.022   |
| Survival rate (%)      | 90.98±3.37 <sup>a</sup>   | 93.91±7.54 <sup>a</sup>    | 89.96±4.99 <sup>a</sup>  | 0.684   |

Note: <sup>a, b</sup> in the same row with different superscripts are significantly different (p<0.05)

**Table 3** The quality of Pacific white leg shrimp postlarvae stages PL9, PL13, and PL25 was evaluated by Shrimp Biotech

| Shrimp quality     | 0% GABA                 | 0.2% GABA               | 0.4% GABA               | p-value |
|--------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------|
| PL9                | 69.00±7.21              | -                       | -                       | -       |
| PL13               | 84.00±2.64 <sup>a</sup> | 84.00±2.64 <sup>a</sup> | 84.00±2.64 <sup>a</sup> | 1.000   |
| PL25               | 89.00±1.00 <sup>c</sup> | 93.00±1.73 <sup>b</sup> | 95.67±1.15 <sup>a</sup> | 0.003   |
| AHPND              | ND                      | ND                      | ND                      | -       |
| WSSV               | ND                      | ND                      | ND                      | -       |
| EHP                | ++++                    | ++++                    | ++++                    | -       |
| Parameters (score) | 0% GABA                 | 0.2% GABA               | 0.4% GABA               | p-value |

**Table 3** The quality of Pacific white leg shrimp postlarvae stages PL9, PL13, and PL25 was evaluated by Shrimp Biotech (Cont.)

| Shrimp quality               | 0% GABA                   | 0.2% GABA                 | 0.4% GABA                 | p-value |
|------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------|
| PL25                         |                           |                           |                           |         |
| Number of spines             | 10.00±0.00 <sup>a</sup>   | 10.00±0.00 <sup>a</sup>   | 10.00±0.00 <sup>a</sup>   | 1.000   |
| Completion of appendages     | 13.67±0.58 <sup>b</sup>   | 14.67±0.58 <sup>a</sup>   | 15.00±0.00 <sup>a</sup>   | 0.031   |
| Completion of hepatopancreas | 14.00±1.73 <sup>a</sup>   | 13.00±1.73 <sup>a</sup>   | 14.00±1.73 <sup>a</sup>   | 0.729   |
| Lipid content                | 14.67±2.31 <sup>b</sup>   | 18.67±2.31 <sup>a</sup>   | 20.00±0.00 <sup>a</sup>   | 0.031   |
| Muscle to gut ratio          | 10.00±0.00 <sup>a</sup>   | 10.00±0.00 <sup>a</sup>   | 10.00±0.00 <sup>a</sup>   | 1.000   |
| Salinity shock               | 11.67±2.89 <sup>a</sup>   | 11.67±2.89 <sup>a</sup>   | 11.67±2.89 <sup>a</sup>   | 1.000   |
| (survival %)                 | (98.33±0.58) <sup>a</sup> | (98.67±1.15) <sup>a</sup> | (98.67±1.15) <sup>a</sup> | 1.000   |
| Formalin tests               | 15.00±0.00 <sup>a</sup>   | 15.00±0.00 <sup>a</sup>   | 15.00±0.00 <sup>a</sup>   | 1.000   |
| (survival %)                 | (98.67±0.58) <sup>a</sup> | (98.67±0.58) <sup>a</sup> | (98.67±0.58) <sup>a</sup> | 1.000   |

Note: <sup>a,b,c</sup> in the same row with different superscripts are significantly different (p<0.05).

ND = non-detect pathogenically, tested by molecular biological methods.

++++ = More than 10 EHP spores were found per sample.

## References

- Abdel-Naime, W. A., Fahim, J. R., Abdelmohsen, U. R., Fouad, M. A., Al-Footy, K. O., Abdel-Lateff, A. A., & Kamel, M. S. (2019). New antimicrobial triterpene glycosides from lemon balm (*Melissa officinalis*). *South African Journal of Botany*, 125, 161-167. doi: 10.1016/j.sajb.2019.07.004
- Bae, J., Hamidoghli, A., Farris, N. W., Olowe, O. S., Choi, W., Lee, S., Won, S., Ohh, M., Lee, S., & Bai, S. C. (2022). Dietary  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) promotes growth and resistance to *Vibrio alginolyticus* in Whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Nutrition*. doi: 10.1155/2022/9105068
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C., & Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*, 46(11), 1086-1089.
- Bahri, H., Benkirane, C., & Tazi, B. (2019). Antioxidant activity of hawthorn (*Crataegus monogyna*) from Morocco. *Academia Journal of Medicinal Plants*, 7(2), 030-035. doi: 10.15413/ajmp.2019.0100
- Boonyawiwat, V., Patanasatienkul, T., Kasornchandra, J., Poolkhet, C., Yaemkasem, S., Hammell, L., & Davidson, J. (2017). Impact of farm management on expression of early mortality syndrome/acute hepatopancreatic necrosis disease (EMS/AHPND) on penaeid shrimp farms in Thailand. *Journal of Fish Diseases*, 40(5), 649-659. doi: 10.1111/jfd.12545
- Boonta, T., Chitmanat, C., & Promya, J. (2012). Effects of *Spirulina platensis*, *Cladophora* sp. and *Allium sativum* supplementary diets on growth performance, reproductive maturity, and phagocytic activity in common lowland frog (*Rana rugulosa*). *Journal of Fisheries Technology Research*, 6(1), 23-35. (in Thai)
- Chang, Y. P., Liu, C. H., Wu, C. C., Chiang, C. M., Lian, J. L., & Hsieh, S. L. (2012). Dietary administration of zingerone to enhance growth, non-specific immune response, and resistance to *Vibrio alginolyticus* in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) juveniles. *Fish & Shellfish Immunology*, 32(2), 284-290. doi: 10.1016/j.fsi.2011.11.017
- Charoendat, U., Koedprang, W., & Thawonsuwan, J. (2021). Effects of crude extract of Hazardana (*Phyllanthus urinaria*) on hepatopancreatic health status, antioxidant, immune response and resistance to acute hepatopancreatic necrosis disease in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *RMUTSV Research Journal*, 13(3), 717-731. (in Thai)
- Cherubini, E., Gaiarsa, J. L., & Ben-Ari, Y. (1991). GABA: an excitatory transmitter in early postnatal life. *Trends in Neurosciences*, 14(12), 515-519. doi:10.1016/0166-2236(91)90003-d.
- Chirawithayaboon, P., Areechon, N., & Meunpol, O. (2020). Hepatopancreatic antioxidant enzyme activities and disease resistance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed diet supplemented with garlic (*Allium sativum*) extract. *Agriculture and Natural Resources*, 54(4), 377-386.
- Churchard, N., Munkongwongsiri, N., Taemmesub, T., Tongsi, P., Somboon, M., Limsuwan, C., Sritunyalucksana, K., & Flegel, T. W. (2016). The dark threat microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in Pacific white shrimp. *Thai shrimp Newspaper*, 13(171), 95-106. (in Thai)
- Department of Fisheries. (2019). *Guidelines and practices for the prevention and control of white spot disease in marine shrimp*. Accessed March 4, 2023. Retrieved from [https://www4.fisheries.go.th/local/file\\_document/20190220224758\\_1\\_file.pdf](https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20190220224758_1_file.pdf) (in Thai)

- Department of Fisheries. (2018). *Standard criteria for evaluation of white leg shrimp postlarvae*. Accessed March 4, 2023. Retrieved from [https://www4.fisheries.go.th/local/file\\_document/20190301135305\\_1\\_file.pdf](https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20190301135305_1_file.pdf) (in Thai)
- Dinis, T. C., Maderia, V. M. C., & Almeida, L. M. (1994). Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315(1), 161-169. doi: 10.1006/abbi.1994.1485
- Direkbusarakom, S., Herunsalee, A., Yoshimizu, M., & Ezura, Y. (1996). Antiviral activity of several Thai traditional herb extracts against fish pathogenic viruses. *Fish Pathology*, 31(4), 209-213.
- Farris, S., Unalan, I. U., Introzzi, L., Fuentes-Alventosa, J. M., & Cozzolino, C. A. (2014). Pullulan-based films and coatings for food packaging: Present applications, emerging opportunities, and future challenges. *Journal of Applied Polymer Science*, 131(13). doi: 10.1002/app.40539
- Froehlicher, T., Hennebelle, T., Martin-Nizard, F., Cleenewerck, P., Hilbert, J. L., Trotin, F., & Grec, S. (2009). Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts. *Food Chemistry*, 115(3), 897-903. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.01.004
- Gonelimali, F. D., Lin, J., Miao, W., Xuan, J., Charles, F., Chen, M., & Hatab, S. R. (2018). Antimicrobial properties and mechanism of action of some plant extracts against food pathogens and spoilage microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1639. doi: 10.3389/fmicb.2018.01639
- Jannoey, P., Niamsup, H., & Lumyong, S. (2010). Comparison of  $\gamma$ -aminobutyric acid production in Thai rice grains. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26, 257-263. doi: 10.1007/s11274-009-0168-2
- Jorgensen, E. M. (2005). *GABA*. Accessed March 16, 2023. Retrieved from [http://www.wormbook.org/chapters/www\\_gaba/gaba.html](http://www.wormbook.org/chapters/www_gaba/gaba.html)
- Kamble, M. T., Rudtanatip, T., Soowannayan, C., Nambunruang, B., Medhe, S. V., & Wongprasert, K. (2022). Depolymerized fractions of sulfated galactans extracted from *Gracilaria fisheri* and their antibacterial activity against *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi*. *Marine Drugs*, 20(8), 469. doi.org/10.3390/md20080469
- Keawtawee, T., Suksri, A., & Denpratya, N. (2019). Effects of *Spirulina platensis* supplemented diets on growth performance and resistance against *Vibrio parahaemolyticus* in white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931). *Khon Kaen Agriculture Journal*, 47(Suppl. 2), 515-520. (in Thai)
- Keser, S., Celik, S., Turkoglu, S., Yilmaz, O., & Turkoglu, I. (2014). The investigation of some bioactive compounds and antioxidant properties of hawthorn (*Crataegus monogyna* subsp. *monogyna* Jacq). *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 3(2), 51-55. doi: 10.5455/jice.20140120103320
- Khan, A. W., Hossain, S. S., & Uddin, S. N. (2007). Isolation, identification and determination of antibiotic susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* from shrimp at Khulna region of Bangladesh. *Research Journal of Microbiology*, 2(3), 216-227. doi:10.3923/jm.2007.216.227
- Kostic, D., Velickovic, J. M., Mitic, S. S., Mitic, M., & Randelovic, S. S. (2012). Phenolic content, and antioxidant and antimicrobial activities of *Crataegus Oxyacantha* L (Rosaceae) fruit extract from Southeast Serbia. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11(1), 117-124. doi: 10.4314/tjpr.v11i1.15
- Liang, Y., Wu, Y., Li, J., Peng, R., Jiang, M., Jiang, X., Chen, S., & Lin, J. (2022). Effects of ammonia toxicity on the histopathology, detoxification, oxidative stress, and immune response of the cuttlefish *Sepia pharaonis* and the mitigation of  $\gamma$ -aminobutyric acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 232, 113256. doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.113256
- Liao, M., Wang, F., Huang, L., Liu, C., Dong, W., Zhuang, X., Yin, X., Liu, Y., & Wang, W. (2023). Effects of dietary *Ginkgo biloba* leaf extract on growth performance, immunity and environmental stress tolerance of *Penaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 132, 108500. doi.org/10.1016/j.fsi.2022.108500
- Liu, B., Ge, X., He, Y., Xie, J., He, Y., Zhou, Q., Pan, L., & Chen, R. (2010). Effects of anthraquinones extracted from *Rheum officinale* Bail on the growth, non-specific immune response of *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 310(1-2), 13-19. doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.09.020
- Lyu, J. I., Ryu, J., Seo, K. S., Kang, K. Y., Park, S. H., Ha, T. H., Ahn, J. W., & Kang, S. Y. (2022). Comparative study on phenolic compounds and antioxidant activities of Hop (*Humulus lupulus* & nbsp;L.) strobile extracts. *Plants (basel)*, 11(1), 135. doi: 10.3390/plants11010135
- Manok, S., & Limcharoen, P. (2015). Investigating antioxidant activity by DPPH, ABTS and FRAP assay and total phenolic compounds of herbal extracts in Ya-hom thepphachit. *Advanced Science*, 15(1), 106-117. (in Thai)

- Munkongwongsiri, N., Limsuwan, C., & Chuchird, N. (2013). Effects of postlarval quality on occurrence of early mortality syndrome in *Litopenaeus vannamei* culture ponds. *Proceedings of the 51<sup>st</sup> Kasetsart University annual conference* (pp. 174-181). Bangkok: Kasetsart University. (in Thai)
- Ngo, D.-H., & Vo, T. S. (2019). An updated review on pharmaceutical properties of  $\gamma$ -aminobutyric acid. *Molecules*, 24(15), 2678. doi: 10.3390/molecules24152678
- Onsanit, S., Thitithanakul, S., Seubsang, C., Julpon, B., Timthong, A., & Tidkongrach, S. (2020). Pigment accumulation patterns, immune systems and antioxidant activities by anthocyanins from dry ripe malabar fruit (*Melastoma malabathricum*) in banana shrimp (*Penaeus merguensis*) feed. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 48(Suppl. 1), 967-974. (in Thai)
- Pawana, A., Laohavisuti, N., & Wangwibulkit, S. (2017). Effect of using *Suaeda maritima* leave extract as a feed additive on the resistance to *Vibrio parahaemolyticus* and the growth of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during nursing. *King Mongkut's Agricultural Journal*, 35(3), 36-41. (in Thai)
- Penprapai, N., Penprapai, P., Ratanamusik, A., & Chumchareon, M. (2017). *Effect of coconut oil with extracted Curcuma zedoaria supplement in diet on growth, oxidative defense and immune system of Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei)*. (Research report). Songkhla. Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya. (in Thai)
- Proestos, C., & Komaitis, M. (2009). Antioxidant capacity of Hops. In V. R. Preedy (Ed.), *Beer in health and disease prevention* (pp. 467-474). United States: Elsevier Inc. Academic Press doi: 10.1016/B978-0-12-373891-2.00045-6
- Puycha, K., & Tanee, S. (2014). Effect of vitamin C on growth and health in aquatic animals. *Rajabhat Agriculture Journal*, 13(2), 63-70. (in Thai)
- Ruchirawat, K., & Vaikrudha, K. (2003). Quality inspection of shrimp fry using the "Biotech Lab" method. In S. Dilokkiat (Ed.), *Thai shrimp, a new step, one of the sustainable world leaders* (pp. 271-280). Bangkok, Thailand: K. Pon printing (in Thai)
- Rudtanatip T., Lynch, S. A., Culloty, S. C., & Wongprasert, K. (2018). Sulfated galactans from red algae *Gracilaria fisheri* increase haemocyte proliferation in common prawn *Palaemon serratus*. *Chulalongkorn Medical Journal*, 62(3), 293-295. (in Thai)
- Songkhla Aquatic Animal Health Research Center. (2022). *EHP management in marine shrimp hatcheries and nurseries*. Accessed March 4, 2023. Retrieved from <https://www4.fisheries.go.th/dof/wellwishes>. (in Thai)
- Songkhla Aquatic Animal Health Research Center. (2018). *Manual for aquatic animal's disease diagnosis using PCR techniques*. Songkhla: Songkhla Aquatic Animal Health Research Center, Department of Fisheries. (in Thai)
- Srimoon, R., & Niyomwan, S. (2021). Development and validation of the Folin-Ciocalteu semi-micro method for total phenolic compounds determination in Rangaeng (*Ventilago denticulata* willd.) extract. *Burapha Science Journal*, 26(1), 378-398. (in Thai)
- Srithaworn, M., Thuyhun, A., Chunhachart, O., & Preecharram, S. (2015). Antioxidant and antibacterial activities of crude extracts from Ya-Keaw formula against shrimp pathogens. *SDU Research Journal Science and Technology*, 8(2), 117-132.
- Tadic, V. M., Dobric, S., Markovic, G. M., Dordevic, S. M., Arsic, I. A., Menkovic, N. R., & Stevic, T. (2008). Anti-inflammatory, gastro protective, free-radical-scavenging, and antimicrobial activities of hawthorn berries ethanol extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(17), 7700-7709. doi.org/10.1021/jf801668c
- Temu, V., Kim, H., Hamidoghli, A., Park, M., Won, S., Oh, M., Han, J. K., & Bai, S. C. (2019). Effects of dietary  $\gamma$ -aminobutyric acid in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 507(5), 475-480. doi: 10.1016/j.aqua culture. 2019.04.063
- Thawonsuwan, J., Kongkumnerd, J., Thavonyuthikarn, M., & Kasornchandra, J. (2010). Efficacy of oil macerated garlic extract on immune responses and diseases resistance in White shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). *Proceedings of the 7<sup>th</sup> National symposium on marine shrimp* (pp. 91-102). Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC). (in Thai)
- Tummarongkongsatit, A. (2007). *Effective of Thai herb extracts to inhibit bacterial pathogens in Giant freshwater prawn (Macrobrachium rosenbergii)*. (Master's thesis). Chiang Mai. Maejo University. (in Thai)
- Van den Pol, A. N. (2003). Weighing the role of hypothalamic feeding neurotransmitters. *Neuron*, 40(6), 1059-1061. doi: 10.1016/s0896-6273(03)00809-2

- Wu, F., Liu, M., Chen, C., Chen, J., & Tan, Q. (2016). Effects of dietary **γ**-aminobutyric acid on growth performance, antioxidant status, and feeding-related gene expression of juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 47(6), 820-829. doi: 10.1111/jwas.12327
- Xie, S. W., Li, Y. T., Zhou, W. W., Tian, L. X., Li, Y. M., Zeng, S. L., & Liu, Y. J. (2017). Effect of **γ**-aminobutyric acid supplementation on growth performance, endocrine hormone and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed low fishmeal diet. *Aquaculture Nutrition*, 23(1), 54-62. doi: 10.1111/anu.12358
- Yin, X., Zhuang, X., Luo, W., Liao, M., Huang, L., Cui, Q., Huang, J., Yan, C., Jiang, Z., Liu, Y., & Wang, W. (2022). Andrographolide promote the growth and immunity of *Litopenaeus vannamei*, and protects shrimps against *Vibrio alginolyticus* by regulating inflammation and apoptosis via a ROS-JNK dependent pathway. *Frontiers in Immunology*, 13, 990297. doi: 10.3389/fimmu.2022.990297
- Yu, H., Pei, J., Qiu, W., Mei, J., & Xie, J. (2022). The antimicrobial effect of *Melissa officinalis* L. essential oil on *Vibrio parahaemolyticus*: Insights based on the cell membrane and external structure. *Frontiers in Microbiology*, 13, 812792. doi: 10.3389/fmicb.2022.812792
- Zhang, C., Wang, X., Wang, C., Song, Y., Pan, J., Shi, Q., Qin, J., & Chen, L. (2021). **Γ**-aminobutyric acid regulates glucose homeostasis and enhances the hepatopancreas health of juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) under fasting stress. *General and Comparative Endocrinology*, 303(2):113704. doi: 10.1016/j.ygcen.2020.113704

## Research article

# Effect of dietary $\gamma$ -aminobutyric acid supplementation on Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) growth and postlarvae quality

Yuparat Inbumrung<sup>1</sup> Orapint Jintasataporn<sup>1\*</sup> Srinoy Chumkam<sup>2</sup>  
and Supawit Triwutanon<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok, 10900

<sup>2</sup> Faculty of Agricultural Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University, Pathum Thani, 13180

<sup>3</sup> Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom, 73140

## ARTICLE INFO

### Article history

Received: 19 May 2023

Revised: 14 August 2023

Accepted: 19 August 2023

Online published: 4 September 2023

### Keyword

$\gamma$ -aminobutyric acid

White leg shrimp

Postlarvae

Shrimp quality

## ABSTRACT

The study aimed to investigate the effects of  $\gamma$ -aminobutyric acid supplementation at levels of 0 %, 0.2 %, and 0.4 % in the diet of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on growth performance and postlarval quality. The postlarvae stage PL9-PL25 during culture was investigated. The results showed that  $\gamma$ -aminobutyric acids extracted from plants (hawthorn, valerian, hops, plants of the cannabis family plant, mint, and lemon balm) had exhibited antioxidant properties and showed inhibitory effects against to *Vibrio parahaemolyticus* AHPND bacteria at a concentration of 50 mg/ml. The PL25 shrimp fed dietary  $\gamma$ -aminobutyric acid supplementation 0.4 % had the highest growth performance. It was  $15.75 \pm 0.95$  mm in total length and  $0.028 \pm 0.00$  g in body weight with a quality score of  $95.67 \pm 1.15$  % and statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) from the control group (0 %). The survival rate was not significantly different ( $p > 0.05$ ), which was in the range of 89.96-93.91 %. Furthermore, under salinity and formalin stress condition, the survival rate was in the same range of 98.33-99.67 % ( $p > 0.05$ ). In all experimental groups, there was no infection by any pathogen causing early mortality or white spot disease. On the contrary, an *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) infection was found in the hepatopancreas of all experimental groups. Therefore, shrimp diets supplemented with 0.4%  $\gamma$ -aminobutyric acid could improve postlarvae growth performance and shrimp quality including resistant to salinity and formalin stress condition. The quality of white leg shrimp is still over 90 % even under EHP infection conditions.

\*Corresponding author

E-mail address: fforora@ku.ac.th (O.Jintasataporn)

Online print: 4 September 2023 Copyright © 2023. This is an open access article, production, and hosting by Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University. <https://doi.org/10.14456/paj.2023.22>