

## อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

### การเก็บและเตรียมตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างหอยเป่าชื่อชนิด *Haliotis ovina* Gmelin, 1791 คัดเลือกเฉพาะที่มีขนาดไม่เกิน 3.2 เซนติเมตร จากบริเวณชายฝั่งหาดหินด้านทิศตะวันตกของเกาะครก จังหวัดชลบุรี (รูปที่ 4) โดยใช้ อุปกรณ์ประดาน้ำ

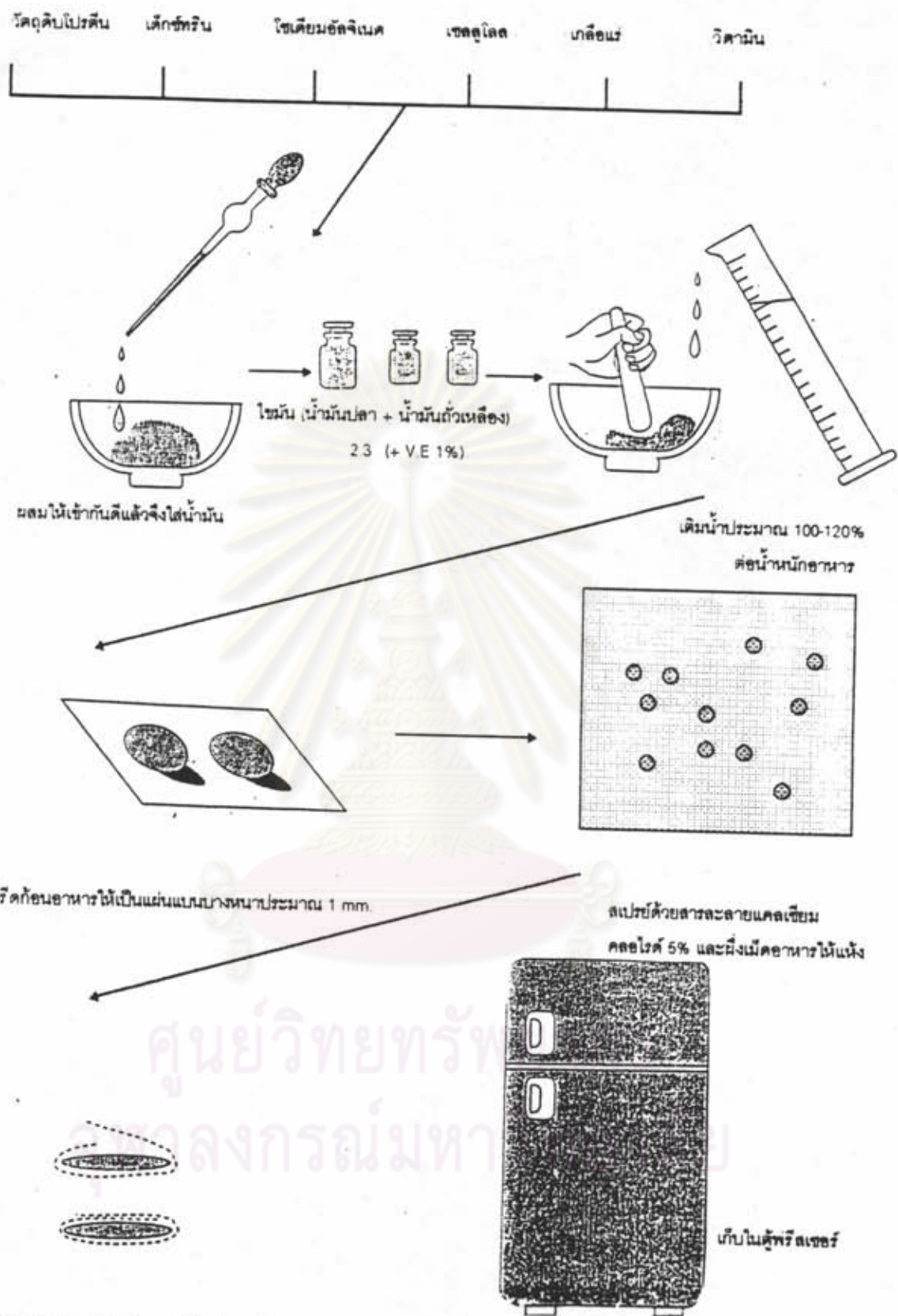
นำหอยเป่าชื่อที่ได้มาปรับสภาพ (acclimate) ให้คุ้นเคยกับระบบการทดลองก่อนการทดลอง โดยเลี้ยงในบ่อคอนกรีตรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด (กว้าง x ยาว x สูง) 1 x 3 x 1 เมตร<sup>3</sup> ความจุ 3 ตัน ใส่น้ำทะเลสูงประมาณ 70 เซนติเมตร ปรับความเค็มให้อยู่ประมาณ 30 - 32 ppt. เพื่อให้ใกล้เคียงกับความเค็มของน้ำทะเลในแหล่งอาศัยในธรรมชาติ ให้อากาศโดยใช้หัวทราย 5 จุดกระจายทั่วบ่อเป็นเวลา 7 วัน และให้สาหร่าย *Enteromorpha* sp. สดเป็นอาหาร

### การเตรียมอาหารสำเร็จ

วิธีการทำอาหารสำเร็จที่ทำขึ้นนี้ดัดแปลงจากวิธีของ Ogino and Ohata (1963), Ogino and Kato (1964) และ Uki and Watanabae (1985) มีขั้นตอนดังนี้ (รูปที่ 5)

นำส่วนผสมที่เป็นผงแห้งทั้งหมดผสมให้เข้ากันก่อนแล้วจึงเติมส่วนผสมที่เป็นไขมันลงไปผสมให้เข้ากัน จากนั้นค่อยเติมน้ำไปเรื่อย ๆ ประมาณ 120-150 % ของน้ำหนักอาหารที่เป็นผง นวดส่วนผสมให้เข้ากันดี นำอาหารที่นวดแล้ววางลงบนแผ่นพลาสติกใช้ลูกกลิ้งนวดอาหารให้เป็นแผ่นเรียบหนาประมาณ 1 มิลลิเมตร ตัดแผ่นอาหารออกเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมจัตุรัสเล็กขนาด 1 ตารางเซนติเมตร จากนั้นนำไปวางบนตระแกรงพลาสติกขัดพื้นด้วยสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 5% จนทั่วแผ่นอาหาร ทำให้โซเดียมอัลจิเนตในอาหารเปลี่ยนเป็นแคลเซียมอัลจิเนตเจล เพื่อให้อาหารที่ผลิตมีความคงตัวอยู่ในน้ำได้นานเหมาะสมกับพฤติกรรมกรรมการกินอาหารของหอยเป่าชื่อ ผึ่งอาหารทิ้งไว้จนแห้งแล้วนำไปเก็บในตู้เย็น (อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส) เพื่อรักษาคุณค่าทางอาหาร





หมักเม็ดอาหารสำเร็จด้วยอนุพันธ์ของยีสต์

รูปที่ 5 ขั้นตอนการผลิตอาหารสำเร็จ (ดัดแปลงจากวิธีของ Ogino and Ohata (1963), Ogino and Kato (1964) และ Uki & Watanabe (1985))



### การวัดการเติบโตของหอยเป่าอื้อ

ในการศึกษาการเติบโตของสัตว์ทดลอง มักใช้ค่าความยาว, ความกว้างและน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง หอยเป่าอื้อเป็นหอยทะเลฝาเดียว เมื่อมีการเติบโตจึงมีการหมุนของเปลือกทำให้ในบางครั้งมีความกว้างหรือความยาวเปลือกลดลง ดังนั้นจึงไม่สามารถใช้ความกว้างหรือความยาวที่เปลี่ยนแปลงไปของหอยเป่าอื้อในการพิจารณาการเติบโตเนื่องจากการทดลองได้ ในการศึกษานี้จึงใช้เฉพาะค่าของน้ำหนัก ซึ่งเป็นค่าที่มีการเปลี่ยนแปลงตามการเติบโตและคุณภาพเนื้อของหอยมาคำนวณหา specific growth และเนื่องจากหอยที่ใช้ในการทดลองเป็นหอยเป่าอื้อวัยรุ่นซึ่งยังไม่มีความสำเร็จเพศ ดังนั้นจึงไม่มีผลของการวางไข่ที่ทำให้หอยวัยเจริญพันธุ์มีน้ำหนักลดลงได้

### ระเบียบวิธีวิจัย

ในการศึกษานี้ประกอบด้วยการศึกษาทดลองทั้งสิ้น 5 การทดลองดังนี้

#### ก. การศึกษาปริมาณไซโตเดียมอัลจินเตที่เหมาะสมในการผลิตอาหารสำเร็จสำหรับหอยเป่าอื้อ *H. ovina*

ความคงตัวของอาหารเป็นปัจจัยหนึ่งที่ต้องคำนึงถึงในการผลิตอาหารสำเร็จสำหรับหอยเป่าอื้อ เนื่องจากหอยเป่าอื้อเป็นสัตว์ที่กินอาหารช้า อาหารสำเร็จที่เหมาะสมจึงต้องมีความคงตัวอยู่ในน้ำได้นานพอ ในการทดลองนี้จะใช้ไซโตเดียมอัลจินเตเป็นสารเหนียว และจะทำการศึกษาปริมาณที่เหมาะสมสำหรับการผลิตอาหาร โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมอาหารทดลอง เตรียมอาหารทดลองตามขั้นตอนดังรูปที่ 5 โดยมีองค์ประกอบในอาหารสำเร็จตามตารางที่ 6 จากนั้นนำอาหารทดลองที่ผึ่งแห้งไปชั่งน้ำหนัก เพื่อนำน้ำหนักเริ่มต้น
2. การเตรียมระบบทดลอง ใช้ตู้ทดลองกระจกรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด (กว้าง x ยาว x สูง) 16 x 19 x 12 นิ้ว<sup>3</sup> ภายในมีแผ่นกระจกใสแบ่งตู้ออกเป็น 2 ส่วน ใส่น้ำทะเลความเค็ม 34 ppt. ลงในตู้สูง 10 นิ้วและให้อากาศโดยใช้หัวทรายตู้ละ 1 อัน
3. แผนการทดลอง การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 7 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ นำอาหารทดลองที่ชั่งน้ำหนักเริ่มต้นแล้วใส่ตู้ ๆ ละ 5 แผ่น จุดบันทึกอุณหภูมิ ความเค็มและลักษณะของเม็ดอาหารในระยะเริ่มต้น ในชั่วโมงที่ 12 และชั่วโมงที่ 16 ซึ่งเมื่อครบชั่วโมงที่ 16 แล้วนำอาหารทดลองมาผึ่งแห้ง นำไปชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักของอาหารที่เหลืออยู่ในแต่ละสูตร

4. การวิเคราะห์ผลการทดลอง คำนวณหาความคงตัวของอาหารสำเร็จแต่ละสูตร โดย

$$\text{ความคงตัวของอาหาร (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักของอาหารที่เหลืออยู่}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100$$

จากนั้นนำมาเปรียบเทียบความคงตัวของอาหารแต่ละสูตรโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA)

ตารางที่ 6 สูตรอาหารที่ใช้ในการศึกษาระดับโซเดียมอัลจิเนตที่เหมาะสมในการผลิตอาหารสำเร็จสำหรับหอยเป่าชื่อ *H. ovina* กำหนดระดับโปรตีนที่ 30% (ดัดแปลงจาก Uki et al., 1985a)

โซเดียมอัลจิเนต %	ปลาป่น %	เด็กซ์ทรีน %	สาหร่าย <i>Entomorpha</i> sp. %	ไขมัน %	วิตามิน %	เกลือแร่ %
0	30	40	20	5	2	3
5	30	35	20	5	2	3
10	30	30	20	5	2	3
15	30	25	20	5	2	3
20	30	20	20	5	2	3
25	30	15	20	5	2	3
30	30	10	20	5	2	3

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ข. การศึกษาแหล่งโปรตีนที่เหมาะสมในการผลิตอาหารสำเร็จสำหรับหอยเป่าฮือ *H. ovina*  
โดยเปรียบเทียบแหล่งโปรตีน 7 ชนิด

แหล่งโปรตีนที่ใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสำเร็จในประเทศที่พอลาได้มีทั้งหมด 7 ชนิดคือ เคซีน ปลายีน ปลาหมึกป่น ไก่ป่น เนื้อป่น กากกุ้งป่น และกากถั่วเหลืองป่น ทุกสูตรอาหารสำเร็จที่ทำขึ้นจะกำหนดเปอร์เซ็นต์โปรตีนให้มีค่าประมาณ 30% โดยมีสาหร่าย *Enteromorpha* sp. สดเป็นชุดควบคุม

1. การเตรียมอาหารทดลอง เตรียมอาหารทดลองตามขั้นตอนดังรูปที่ 5 โดยมีองค์ประกอบดังตารางที่ 7

2. การเตรียมระบบทดลอง ระบบทดลองประกอบด้วยหน่วยทดลองทั้งสิ้น 16 หน่วย แต่ละหน่วยทำด้วยท่อพลาสติก PVC ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว สูง 10 นิ้ว พื้นทำด้วยแผ่นพลาสติกอะคลิลิกสีดำเจาะรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร 16 รูเฉลี่ยทั่วแผ่น ด้านบนมีฝาปิดทำด้วยพลาสติกอะคลิลิกสีดำเช่นกัน ที่ตัวท่อด้านบนเจาะรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 นิ้ว ห่างจากขอบบนของท่อประมาณ 1 นิ้ว เพื่อเป็นทางออกของน้ำ (รูปที่ 6) หน่วยทดลองอยู่ในบ่อคอนกรีตรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด (กว้าง x ยาว x สูง) 1 x 3 X 1 เมตร<sup>3</sup> ความจุ 3 ตัน ใส่น้ำทะเลสูง 70 เซนติเมตร ความเค็มประมาณ 30 - 32 ppt. มีระบบการหมุนเวียนน้ำบ่อคอนกรีตที่มีหน่วยทดลองจะเชื่อมกับบ่อคอนกรีตขนาดเดียวกัน โดยมีไดโว่จะสูบน้ำในบ่อคอนกรีตจ่ายไปยังถังพลาสติกขนาด 200 ลิตรซึ่งเป็นถังเปล่าที่ตั้งอยู่บนขอบบ่อ เพื่อให้เกิดแรงดันน้ำผ่านมายังถังกรองทรายขนาด 200 ลิตรที่อยู่ติดกัน (รูปที่ 6) น้ำจะผ่านชั้นทรายขนาดต่างกันเพื่อให้มีคุณภาพน้ำที่ดีขึ้น และผ่านไปตามท่อเข้าหน่วยทดลองแต่ละหน่วยโดยตรงทางด้านล่าง โดยมีวาล์วที่หน่วยทดลองเป็นตัวควบคุมปริมาณของน้ำที่เข้าไปให้อยู่ที่ระดับความเร็ว 20 ลิตร/นาที จากนั้นน้ำที่ออกจากหน่วยทดลองจะไหลกลับไปยังบ่อคอนกรีตเช่นเดิม ทำการถ่ายน้ำภายในระบบทดลองสัปดาห์ละ 1 ครั้งประมาณ 30 % ของปริมาณน้ำทั้งหมด รวมทั้งปรับความเค็มของบ่อทดลองให้มีค่าอยู่ระหว่าง 30 - 32 ppt.

3. แผนการทดลอง การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 7 ชุดการทดลอง ๗ ละ 2 ซ้ำ นำหอยเป่าฮือมาติดหมายเลขประจำตัวด้วยกาวพิเศษที่ทนน้ำเค็ม จากนั้นนำไปวัดขนาดและน้ำหนักเริ่มต้นของหอยเป่าฮือแต่ละตัว สุ่มหอยเป่าฮือลงเลี้ยงในหน่วยทดลองหน่วยละ 5 ตัว ให้อาหารสำเร็จ 5 แผ่นต่อหน่วยทดลองในเวลาประมาณ 16:00 น. ของทุกวัน และทำความสะอาดตู้เพาะอาหารเก่าออกก่อนใส่อาหารใหม่ทุกครั้ง

เก็บข้อมูลด้านการเติบโต โดยวัดความยาวและความกว้างของเปลือกด้วยเวอร์เนียความละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง ส่วนน้ำหนักวัดด้วยเครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ความละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง คำนวณหาอัตราการรอดของหอยเป่าฮือทุก 30 วัน รวมระยะเวลาการทดลองทั้งสิ้น 60 วัน

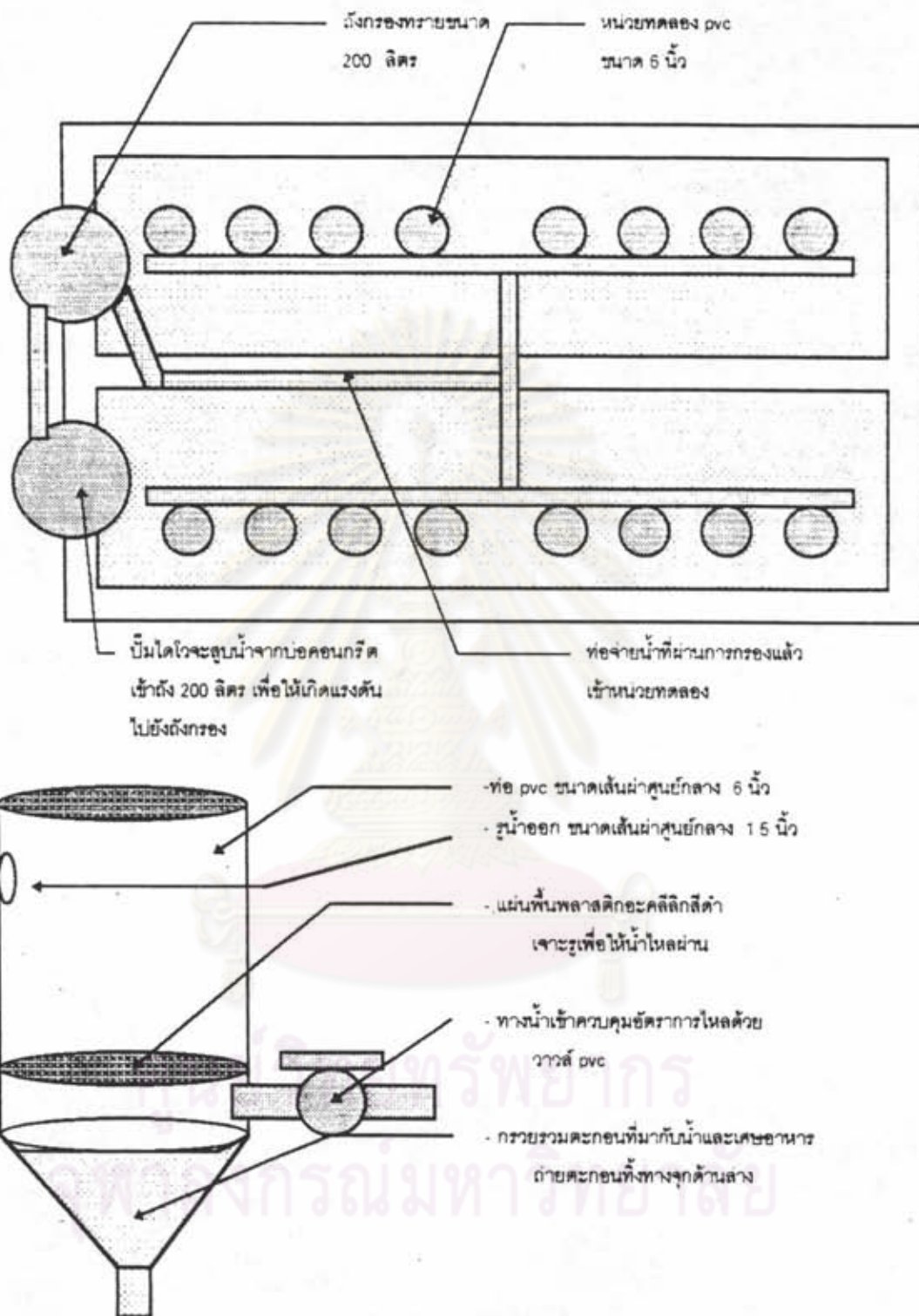
4. การวิเคราะห์ผลการทดลอง คำนวณหา specific growth ต่อ 1 เดือนจากสูตร

$$\text{specific growth} = \frac{\ln(\text{น้ำหนักสุดท้าย}) - \ln(\text{น้ำหนักเริ่มต้น})}{\text{เวลา (เดือน)}}$$

แล้วเปรียบเทียบค่า specific growth ของหอยที่กินอาหารในแต่ละสูตรโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA)

ตารางที่ 7 สูตรอาหารที่ใช้ในผลิตอาหารทดสอบสำหรับการศึกษาแหล่งโปรตีนที่เหมาะสมในการผลิตอาหารสำเร็จสำหรับหอยเป่าฮื้อ *H. ovina* โดยเปรียบเทียบแหล่งโปรตีน 7 ชนิด

ชุดการทดลอง	โปรตีนหลัก (%)	เด็กซ์ทริน (%)	ไขมัน (%)	เซลลูโลส (%)	โซเดียมอัลจิเนต (%)	วิตามิน %	เกลือแร่ (%)
เคซีน	31.57	22.93	5.00	1.5	20.0	1.50	4.0
ปลาป่น	42.87	21.47	1.53	8.63	20.0	1.50	4.0
ปลาหมึกป่น	46.45	19.15	0.68	8.22	20.0	1.50	4.0
ไก่ป่น	46.08	17.3	2.84	8.28	20.0	1.50	4.0
เนื้อป่น	44.93	16.4	1.13	12.04	20.0	1.50	4.0
กากกุ้ง	64.89	8.19	1.42	0	20.0	1.50	4.0
กากถั่วเหลือง	65.19	1.83	3.83	3.65	20.0	1.50	4.0
สาขา (ชุดควบคุม)	-	-	-	-	-	-	-



รูปที่ 6 ระบบทดลองที่ใช้ในการศึกษาแหล่งโปรตีนที่เหมาะสมในการผลิตอาหารสำเร็จ สำหรับหอยเป่าฮือ *H. ovina* โดยเปรียบเทียบแหล่งโปรตีน 7 ชนิด



ค. การหาปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการคลายกล้ามเนื้อเท้าของหอยเป่าฮือ *H. ovina*

ในการวัดการเติบโตของหอยเป่าฮือจะต้องมีการแกะหอยออกจากระบบทดลอง ซึ่งจากการทดลอง ข. พบว่ามีหอยที่บาดเจ็บและตายเนื่องจากการแกะจำนวนมาก ทำให้ไม่สามารถพิจารณาผลของอาหารที่มีต่ออัตราการรอดได้ แมกนีเซียมซัลเฟตเป็นสารที่ช่วยในการคลายกล้ามเนื้อ ถ้าใช้ในปริมาณที่เหมาะสมหอยจะคลายกล้ามเนื้อเท้าทำให้ง่ายต่อการนำหอยออกจากระบบ แต่ถ้าใช้ปริมาณมากเกินไปหอยอาจตายได้ ดังนั้นจึงทำการทดลองนี้เพื่อหาปริมาณแมกนีเซียมที่เหมาะสมสำหรับการคลายตัวของกล้ามเนื้อเท้าของหอย ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมสารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต ( $MgSO_4$ ) เตรียมสารละลายแมกนีเซียมซัลเฟตที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ดังตารางที่ 8

2. การเตรียมระบบทดลอง ใช้ตู้ทดลองกระจกรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด (กว้าง x ยาว x สูง)  $16 \times 19 \times 12$  นิ้ว<sup>3</sup> ภายในมีแผ่นกระจกใสแบ่งตู้ออกเป็น 2 ส่วน ใส่น้ำทะเลความเค็ม 34 ppt. ลงในตู้สูง 10 นิ้วและให้อากาศโดยใช้หัวทราย ตู้ละ 1 อัน

3. แผนการทดลอง การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 6 ชุดการทดลอง ใส่หอยเป่าฮือชุดการทดลองละ 15 ตัว จุดบันทึกอุณหภูมิ ความเค็มและลักษณะพฤติกรรมของหอยเป่าฮือก่อนการทดลอง ทั้งระยะเวลาประมาณ 5 นาที เทน้ำทะเลเดิมออกแล้วใส่สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟตในน้ำทะเลแต่ละชุดการทดลองเพื่อให้ได้ระดับความเข้มข้นดังนี้ 5, 10, 15, 20 และ 25 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) และที่ความเข้มข้น 0% เป็นชุดควบคุม จับเวลา 15 นาที บันทึกพฤติกรรมของหอยเป่าฮือและระยะเวลาที่หอยใช้ในการคลายกล้ามเนื้อเท้าหลังจากได้รับสารละลายแมกนีเซียมซัลเฟตในแต่ละชุดการทดลอง

4. การวิเคราะห์ผลการทดลอง เปรียบเทียบพฤติกรรมและการแสดงออกขณะคลายกล้ามเนื้อเท้าของหอยเป่าฮือในแต่ละชุดการทดลองจากการสังเกต และเปรียบเทียบระยะเวลาที่หอยใช้ในการคลายกล้ามเนื้อเท้าหลังจากได้รับสารละลายแมกนีเซียมซัลเฟตในแต่ละชุดการทดลองโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA)

ตารางที่ 8 ปริมาณของแมกนีเซียมซัลเฟตในชุดการทดลองต่าง ๆ

ชุดการทดลอง	แมกนีเซียมซัลเฟต (กรัม)	ปริมาณสารละลายสุทธิ (มล.) (น้ำทะเลความเค็ม 32 ppt.)
1(control)	0	100
2	5	100
3	10	100
4	15	100
5	20	100
6	25	100

ง. การศึกษาแหล่งโปรตีนที่เหมาะสมในการผลิตอาหารสำเร็จสำหรับหอยเป่าชื่อ *H. ovina*  
โดยเปรียบเทียบแหล่งโปรตีน 5 ชนิด

จากข้อบกพร่องบางประการในการทดลอง ข. จึงได้ปรับปรุงการทดลองโดยตัดวัตถุดิบอาหารไก่ป่นและเนื้อป่นออก เพราะเมื่อทำเป็นอาหารสำเร็จแล้วมีความคงตัวไม่ดีเนื่องจากมีเศษวัตถุที่เป็นของแข็งอยู่มาก และทั้งสองชนิดเป็นวัตถุดิบอาหารที่หายากไม่มีขายทั่วไปตามท้องตลาด ส่วนระบบการทดลองปรับปรุงให้หอยเป่าชื่ออยู่ในตระกร้า 1 ช่องต่อ 1 ตัว เพื่อเป็นการป้องกันการแก่งแย่งอาหารซึ่งจะเกิดเมื่อหอยอยู่รวมกันหลายตัวในหน่วยทดลองเดียวกัน ในการทดลองนี้จะทำการศึกษาแหล่งโปรตีนที่เหมาะสมในการผลิตอาหารสำเร็จสำหรับหอยเป่าชื่อซ้ำ แต่ใช้แหล่งโปรตีนจาก 5 แหล่งคือ เคซีน, ปลาป่น, ปลาหมึกป่น, กากกุ้งป่น และกากถั่วเหลืองป่น การทดลองมีขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมอาหารทดลอง เตรียมอาหารทดลองตามขั้นตอนดังรูปที่ 5 โดยมีองค์ประกอบดังตารางที่ 9 กำหนดให้ทุกสูตรมี % โปรตีนเท่ากับ 30%

2. การเตรียมระบบทดลอง การทดลองนี้มีหน่วยทดลองมีทั้งสิ้น 10 หน่วยทดลอง แต่ละหน่วยทำด้วยตระกร้าพลาสติกรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า (กว้าง x ยาว x สูง) ขนาด 12 x 8 x 2 นิ้ว<sup>3</sup> 2 ใบประกบกัน แบ่งภายในออกเป็น 7 ช่องเท่ากันด้วยพลาสติกอะคลิลิกใส หน่วยทดลองอยู่ในบ่อคอนกรีตรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด (กว้าง x ยาว x สูง) 1 x 3 x 1 เมตร<sup>3</sup> (รูปที่ 7) ความจุ 3 ตัน ใส่น้ำทะเลสูง 70 เซนติเมตร ความเค็มประมาณ 30-32 ppt. ด้านบนของบ่อใช้ผ้าพลาสติกทึบแสงปิดเพื่อป้องกันการเกิดสาหร่ายซึ่งเป็นอาหารธรรมชาติของหอยเป่าชื่อ

ระบบการหมุนเวียนน้ำเป็นแบบไหลผ่านระบบตลอดเวลา โดยน้ำทะเลก่อนเข้าระบบจะผ่านไส้กรองชนิดผ้าขนาด 5 ไมครอน 2 ตัวต่อเรียงกัน น้ำจะเข้าสู่ระบบทางด้านหนึ่งและไหลออกจากระบบทางที่อื่นอีกด้านของบ่อคอนกรีต (รูปที่ 7) อัตราการไหลของน้ำประมาณ 30 ลิตร/นาที ทำการถ่ายน้ำทำความสะอาดระบบทุกสัปดาห์

3. แผนการทดลอง การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 2 ซ้ำ นำหอยเป่าฮือไปวัดขนาดและน้ำหนักเริ่มต้น สุ่มหอยเป่าฮือปล่อยลงในหน่วยทดลองช่องละ 1 ตัว แต่ละชุดการทดลองใช้หอยเป่าฮือ 14 ตัว ให้อาหารสำเร็จ 1 แผ่นต่อหอยเป่าฮือ 1 ตัวในเวลาประมาณ 16:00 น. ของทุกวัน และจะทำความสะอาดเอาเศษอาหารเก่าออกก่อนใส่อาหาร ใหม่ทุกครั้ง

การเก็บข้อมูลด้านการเติบโต ทำโดยนำตระกร้าพลาสติกที่มีหอยเป่าฮือแช่ลงในสารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต 15% ในน้ำทะเลประมาณ 1 นาทีเพื่อให้หอยคลายกล้ามเนื้อทำ เป็นการป้องกันการบาดเจ็บในระหว่างการนำหอยออกจากตระกร้า การวัดความยาวและความกว้างของเปลือกใช้เวอร์เนียความละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง ส่วนน้ำหนักใช้เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ความละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง และคำนวณอัตราการรอดของหอยเป่าฮือทุก 30 วัน รวมระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองทั้งสิ้น 60 วัน

4. การวิเคราะห์ผลการทดลอง คำนวณหา specific growth ต่อ 1 เดือนจากสูตร

$$\text{specific growth} = \frac{\ln(\text{น้ำหนักสุดท้าย}) - \ln(\text{น้ำหนักเริ่มต้น})}{\text{เวลา (หน่วย)}}$$

แล้วเปรียบเทียบค่า Specific growth ของหอยที่กินอาหารในแต่ละสูตรโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA)

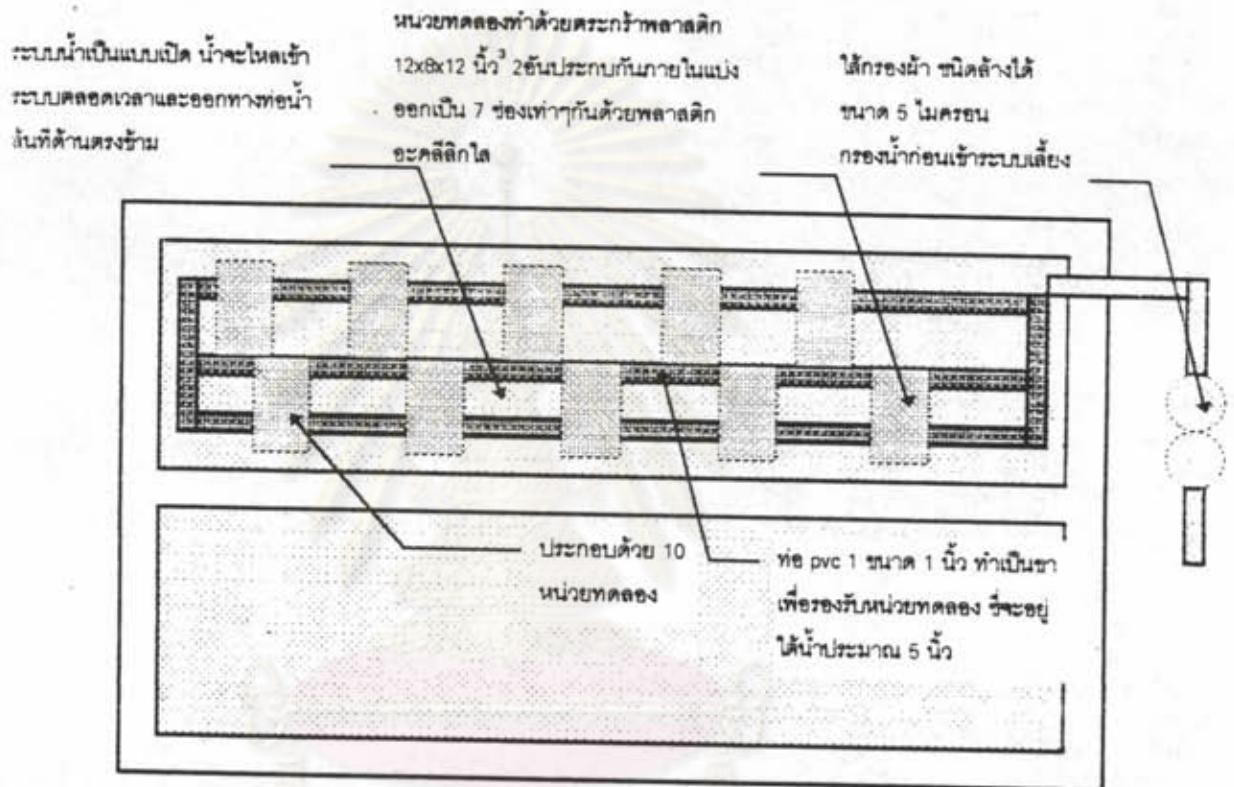
ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางที่ 9 สูตรอาหารที่ใช้ในการเตรียมอาหารสำเร็จเพื่อศึกษาแหล่งโปรตีนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตอาหารสำเร็จสำหรับหอยเป่าฮื้อ *H. ovina* โดยเปรียบเทียบแหล่งโปรตีน 5 ชนิด

ชุดการทดลอง	โปรตีนหลัก (%)	เด็กชทริน (%)	ไขมัน (%)	เซลลูโลส (%)	โซเดียมอัลจิเนต (%)	วิตามิน %	เกลือแร่ (%)
เคซีน	31.57	22.93	5.00	15.00	20.00	1.50	4.0
ปลาป่น	42.87	21.47	1.53	8.63	20.00	1.50	4.0
ปลาหมึกป่น	46.45	19.15	0.68	8.22	20.00	1.50	4.0
กากกุ้ง	64.89	8.19	1.42	0	20.00	1.50	4.0
กากถั่วเหลือง	65.19	1.83	3.83	3.65	20.00	1.50	4.0

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 7 ระบบทดลองที่ใช้ในการศึกษาแหล่งโปรตีนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตอาหารสำเร็จ  
สำหรับหอยเป่าชื่อ *H. ovina* โดยเปรียบเทียบแหล่งโปรตีน 5 ชนิด

๑. การศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนในอาหารสำเร็จของหอยเป่าชื่อ *H. ovina* โดยเปรียบเทียบแหล่งโปรตีน 5 ชนิด

ในการทดลอง ง. เราจะทราบว่าอาหารสูตรใดทำให้หอยเป่าชื่อมีการเติบโต แต่การจะเลือกว่าวัตถุดิบใดมีความเหมาะสมสำหรับเลือกใช้เป็นแหล่งโปรตีนในการผลิตอาหารสำเร็จนั้น นอกจากจะต้องพิจารณาถึงอัตราการเติบโตแล้ว ยังต้องคำนึงว่าหอยสามารถย่อยโปรตีนนั้นได้มากน้อยเพียงใด การทดลองนี้จะทำการคำนวณหาค่า protein digestibility ของหอยเป่าชื่อที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนต่างกัน 5 แหล่ง โดยมีขั้นตอนในการทดลองดังนี้

1. การเตรียมอาหารทดลอง เตรียมอาหารทดลองตามขั้นตอนดังรูปที่ 5 โดยมีองค์ประกอบดังตารางที่ 10 ซึ่งจะกำหนดให้ทุกสูตรมีสัดส่วนโปรตีน 30% และใส่โครมิกออกไซด์ 0.5 % เพื่อเป็น external marker

ตารางที่ 10 สูตรอาหารที่ใช้ในการผลิตอาหารสำเร็จเพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนในอาหารสำเร็จของหอยเป่าชื่อ *H. ovina* โดยเปรียบเทียบแหล่งโปรตีน 5 ชนิด

ชุดการทดลอง	โปรตีนหลัก (%)	เด็กชทริน (%)	ไขมัน (%)	เซลลูโลส (%)	โซเดียมแอลจีเนต (%)	วิตามิน %	เกลือแร่ (%)	โครมิกออกไซด์ (Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ) (%)
เคซีน	31.57	22.93	5.00	15.00	20	1.5	3.5	0.5
ปลาป่น	42.87	21.47	1.53	8.63	20	1.5	3.5	0.5
ปลาหมึกป่น	46.45	19.15	.68	8.22	20	1.5	3.5	0.5
กากกุ้ง	64.89	8.19	1.42	0	20	1.5	3.5	0.5
กากถั่วเหลือง	65.19	1.83	3.83	3.65	20	1.5	3.5	0.5

2. การเตรียมระบบทดลอง การทดลองนี้มีหน่วยทดลองทั้งสิ้น 5 หน่วยทดลอง หน่วยทดลองทำด้วยกล่องพลาสติกกรุปซีเหลียมจัตุรัสขนาด (กว้าง x ยาว x สูง) 15 x 15 x 6 นิ้ว<sup>3</sup> ต่อสายยางเพื่อให้น้ำทะเลไหลผ่านหน่วยทดลอง อัตราเร็วประมาณ 2 ลิตร/นาที



3. แผนการทดลอง การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ในแต่ละชุดจะให้อาหารสูตรที่มีโครมิกออกไซด์แก่หอยเป่าฮือชุดเดียวกับการทดลอง ๓. เป็นเวลา 10 วันเพื่อเป็นการขับเอาอาหารเก่าออกจากระบบทางเดินอาหารเพื่อให้แน่ใจว่าอุจจาระที่เก็บได้เกิดจากอาหารใหม่ที่มีโครมิกออกไซด์เท่านั้น เมื่อเริ่มการทดลองนำหอยเป่าฮือทั้ง 14 ตัวในแต่ละชุดการทดลองของการทดลอง ๓. มารวมกันในหน่วยทดลอง เพื่อรวบรวมอุจจาระของหอยเป่าฮือให้พอเพียงสำหรับการวิเคราะห์ การทดลองใช้เวลาประมาณ 7 วัน ทำความสะอาดหน่วยทดลองทุกวันก่อนให้อาหารทดลองในเวลาประมาณ 16:00 น.

การเก็บอุจจาระของหอยเป่าฮือ ใช้สายยางอากาศขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตรดูดอุจจาระของหอยเป่าฮือ โดยกรองด้วยผ้ากรองขนาด 25 ไมครอน เสร็จแล้วทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที เพื่อให้อุจจาระของหอยเป่าฮือมีน้ำน้อยลงมากที่สุด หลังจากนั้นนำไปใส่ไว้ในกระดาษอลูมิเนียมแล้วเก็บในตู้แช่ก่อนนำไปวิเคราะห์หา % โปรตีนด้วยเครื่อง CHN และหาปริมาณโครเมียมด้วยวิธี Atomic Absorption Spectrophotometry

4. การวิเคราะห์ผล คำนวณหาค่า protein digestibility ในแต่ละชุดการทดลองโดยใช้สูตร

$$\text{protein digestibility (\%)} = 100 - 100 \left[ \frac{\% \text{ marker in diet} \times \% \text{ protein in feces}}{\% \text{ marker in feces} \times \% \text{ protein in diet}} \right]$$

จากนั้นนำมาเปรียบเทียบค่า protein digestibility ของหอยต่ออาหารในแต่ละสูตรโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA)

๑. การวิเคราะห์องค์ประกอบของเนื้อหอยเป่าฮือ *H. ovina* ที่กินอาหารสำเร็จที่ผลิตจากแหล่งโปรตีน 5 ชนิด

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง จ. นำหอยเป่าฮือในแต่ละชุดทดลองมาใส่ในถุงพลาสติกและแช่ในตู้แช่แข็งทันทีเพื่อรักษาคุณภาพของเนื้อหอยเป่าฮือก่อนนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบ (Proximate analysis) เปรียบเทียบความแตกต่างของเนื้อหอยที่เกิดจากการกินอาหารต่างชนิดกัน

การวิเคราะห์องค์ประกอบ (Proximate analysis) ของตัวอย่างใช้วิธีของ Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1975) มีขั้นตอนดังนี้

1. หาปริมาณความชื้นที่มีอยู่ในตัวอย่างโดยอบใน Hot-air oven ที่อุณหภูมิ 90-100 °C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ถ้าจะไม่วิเคราะห์ไขมันสามารถอบที่อุณหภูมิ 135 °C ได้ เพราะที่อุณหภูมินี้อาจมีไขมันบางส่วนสูญเสียบ้างกับความชื้น

2. หาปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ทั้งหมดในอาหาร (Crude protein) โดยใช้เครื่อง Kjeldahl เครื่องนี้จะทำการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนที่มีอยู่ในตัวอย่างออกมา จากที่ทราบว่ามีไนโตรเจนอยู่ในองค์ประกอบประมาณ 16% ดังนั้นปริมาณโปรตีนทั้งหมดจะเท่ากับปริมาณไนโตรเจนที่มีอยู่ในตัวอย่างคูณด้วย 6.25

3. การหาปริมาณไขมัน (Ether extract) ใช้เครื่องมือ Soxhlet หรือ Goldfish โดยนำตัวอย่างมาสกัดใน ether ที่อุณหภูมิสูง หรืออาจใช้ methylene chloride ไขมันจะถูกสกัดออกมาให้ละลายในสารละลาย (Phospholipids และ Lipoproteins)

4. การหาเยื่อใย (Crude fiber) หาได้โดยนำตัวอย่างไปต้มในกรดอ่อนและด่างอ่อนตามลำดับ ส่วนที่เหลือคือเยื่อใยร่วมกับสารอนินทรีย์

5. การหาเถ้า (Ash) เผาตัวอย่างจากข้อ 4 ที่อุณหภูมิ 550-600 °C ส่วนที่เหลืออยู่ก็คือเถ้า แต่ถ้าต้องการวิเคราะห์องค์ประกอบของแร่ธาตุต่าง ๆ ต่อ ควรเผาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 550 °C เพราะอาจสูญเสียแร่ธาตุบางชนิดถ้าใช้อุณหภูมิสูง

6. การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรต (Nitrogen-free extract) NFE หาได้จากปริมาณสารที่หาได้ทั้งหมดลบออกจากตัวอย่าง ส่วนที่เหลือก็คือส่วนที่เป็นคาร์โบไฮเดรต

ข. การศึกษาระดับโปรตีนที่เหมาะสมในการผลิตอาหารสำเร็จสำหรับหอยเป่าชื่อ *H. ovina* โดยเปรียบเทียบระดับโปรตีน 7 ระดับ

จากผลการทดลอง ง. เลือกแหล่งโปรตีนที่เหมาะสมในการผลิตอาหารสำเร็จสำหรับหอยเป่าชื่อ มาใช้เป็นแหล่งโปรตีนในการทดลอง ข. ขั้นตอนในการศึกษามีดังนี้

1. การเตรียมอาหารทดลอง เตรียมอาหารทดลองตามขั้นตอนดังรูปที่ 5 โดยมีองค์ประกอบดังตารางที่ 11 กำหนดให้ทุกสูตรใช้ปลาน้ำจืดซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนที่เลือกจากการทดลอง ง.

2. การเตรียมระบบทดลอง การทดลองนี้มีหน่วยทดลองทั้งสิ้น 14 หน่วยทดลอง แต่ละหน่วยทำด้วยตระกร้าพลาสติกรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ( กว้าง x ยาว x สูง) ขนาด 12 x 8 x 2 นิ้ว<sup>3</sup> 2 ใบประกบกัน แบ่งภายในออกเป็น 7 ช่องเท่ากันด้วยพลาสติกอะคริลิกใส หน่วยทดลองอยู่ในบ่อคอนกรีตรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด ( กว้าง x ยาว x สูง) 1 x 3 x 1 เมตร<sup>3</sup> ความจุ 3 ตัน ใส่น้ำทะเลสูง 70 เซนติเมตร ความเค็มประมาณ 30 - 32 ppt. ด้านบนของบ่อใช้ผ้าพลาสติกทึบแสงปิดเพื่อป้องกันการเกิดสาหร่ายซึ่งเป็นอาหารธรรมชาติของหอยเป่าชื่อ

ระบบการหมุนเวียนน้ำเป็นแบบไหลผ่านระบบตลอดเวลา โดยน้ำทะเลก่อนเข้าระบบจะผ่านไส้กรองชนิดผ้าขนาด 5 ไมครอน 2 ตัวต่อเรียงกัน น้ำจะเข้าสู่ระบบทางด้านหนึ่งและไหลออกจากระบบทางท่อน้ำล้นอีกด้านของบ่อคอนกรีต (รูปที่ 8) อัตราการไหลของน้ำประมาณ 30 ลิตร/นาที ทำการถ่ายน้ำทำความสะอาดระบบทุกสัปดาห์



3. แผนการทดลอง การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 7 ชุดการทดลอง ๆ ละ 2 ซ้ำ แต่ละชุดการทดลองใช้หอยเป่าฮื้อ 14 ตัว ชั้นแรกจะนำหอยเป่าฮื้อไปวัดขนาดและน้ำหนักเริ่มต้น สุ่มหอยเป่าฮื้อปล่อยลงในหน่วยทดลองช่องละ 1 ตัว ให้อาหารทดลอง 1 แผ่นต่อหอยเป่าฮื้อ 1 ตัว ในเวลาประมาณ 16:00 น. ของทุกวัน และทำความสะอาดเอาเศษอาหารเก่าออกก่อนใส่อาหาร ใหม่ทุกครั้ง

การเก็บข้อมูลด้านการเติบโต ทำโดยนำตระกร้าพลาสติกที่มีหอยเป่าฮื้อแช่ลงในสารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต 15% ในน้ำทะเลประมาณ 1 นาทีเพื่อให้หอยคลายกล้ามเนื้อ เป็นการป้องกันการบาดเจ็บในระหว่างการนำหอยออกจากตระกร้า การวัดความยาวและความกว้างของเปลือกใช้เวอร์เนียความละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง ส่วนน้ำหนักใช้เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ความละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง และคำนวณอัตราการรอดของหอยเป่าฮื้อทุก 30 วัน รวมระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองทั้งสิ้น 60 วัน

4. การวิเคราะห์ผลการทดลอง คำนวณหา specific growth ต่อ 1 เดือนจากสูตร

$$\text{specific growth} = \frac{\ln(\text{น้ำหนักสุดท้าย}) - \ln(\text{น้ำหนักเริ่มต้น})}{\text{เวลา (เดือน)}}$$

แล้วเปรียบเทียบค่า Specific growth ของหอยที่กินอาหารในแต่ละสูตรโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA)

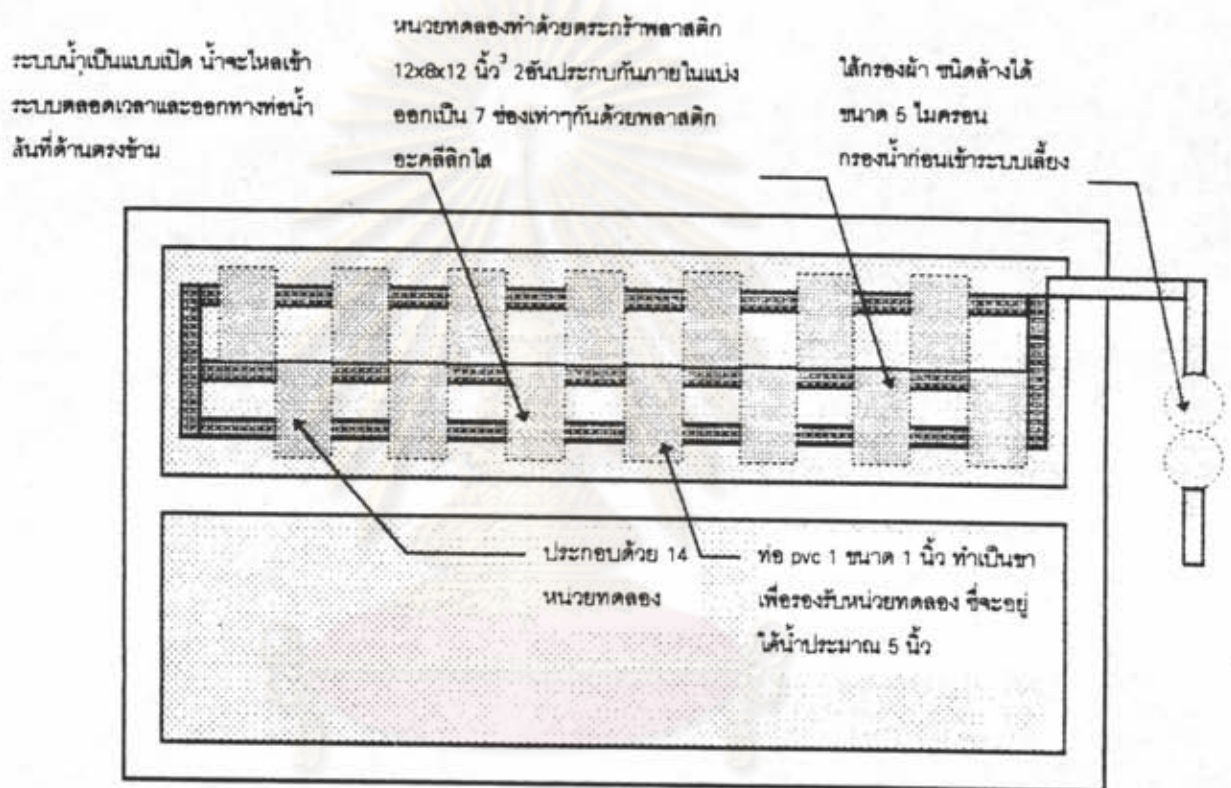
ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางที่ 11 สูตรอาหารที่ใช้ในการผลิตอาหารเพื่อศึกษาระดับโปรตีนที่เหมาะสมในการผลิตอาหารสำเร็จสำหรับหอยเป่าฮือ *H. ovina* โดยเปรียบเทียบระดับโปรตีน 7 ระดับ และใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีน

ระดับโปรตีน ในอาหาร	โปรตีน หลัก (%)	เด็กซ์ทริน (%)	ไขมัน (%)	เซลลูโลส (%)	โซเดียม อัลจิเนต (%)	วิตามิน %	เกลือแร่ (%)
5 %	7.16	18.25	4.67	44.42	20.00	1.50	4.0
10 %	14.32	17.94	4.33	37.91	20.00	1.50	4.0
15%	21.48	17.62	4.00	31.40	20.00	1.50	4.0
20 %	28.64	17.31	3.66	24.89	20.00	1.50	4.0
25 %	35.80	17.00	3.33	18.37	20.00	1.50	4.0
30 %	42.96	16.69	3.00	11.85	20.00	1.50	4.0
40 %	57.27	16.06	1.17	0	20.00	1.50	4.0

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 8 ระบบทดลองที่ใช้ในการศึกษาระดับโปรตีนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตอาหารสำเร็จ  
สำหรับหอยเป่าฮือ *H. ovina* โดยเปรียบเทียบระดับโปรตีน 7 ระดับ และใช้ปลาป่นเป็น  
แหล่งโปรตีน