ผลของบริเวอร์ยีสต์และนิวคลีโอไทด์ในอาหารต่อการเติบโตและอัตรารอดของหอยหวาน *Babylonia areolata*

นางสาวชัชรีย่า เชยชม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF BREWER'S YEAST AND DIETARY NUCLEOTIDES ON GROWTH AND SURVIVAL RATE OF SPOTTED BABYLON *Babylonia areolata*

Miss. Chatchareeya Cheychom

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2009

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของบริเวอร์ยีสต์และนิวคลีโอไทด์ในอาหารต่อการเติบโตและอัตรารอดของหอยหวาน *Babylonia areolata*
โดย	นางสาวชัชรียา เชยชม
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิติธรรมยง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล)

..... กรรมการ

(ดร.ศิราวุธ กลิ่นบุหงา)

..... กรรมการ

(ดร.นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ดร.มะลิ บุณยรัตผลิน)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชัชรียา เชยชม : ผลของบริเวอร์ยีสต์และนิวคลีโอไทด์ในอาหารต่อการเติบโตและอัตรารอดของหอยหวาน *Babylonia areolata*. (EFFECTS OF BREWER'S YEAST AND DIETARY NUCLEOTIDES ON GROWTH AND SURVIVAL RATE OF SPOTTED BABYLON *Babylonia areolata*) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ.ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล, 80 หน้า.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาอาหารสำหรับใช้ในการเลี้ยงหอยหวาน *Babylonia areolata* โดยการเสริมอาหารสูตรควบคุมด้วยบริเวอร์ยีสต์ 2 ระดับ (ร้อยละ1, 2) และด้วยนิวคลีโอไทด์ (NuPro) 2 ระดับ (ร้อยละ1, 2) ศึกษาการเติบโต และอัตรารอดของหอยหวาน (*Babylonia areolata*) โดยเลี้ยงหอยหวานในบ่อเลี้ยงระบบน้ำหมุนเวียนเป็นระยะเวลา 4 เดือน ที่ความหนาแน่น 214 ตัว/ตารางเมตร พบว่าการเติบโตในด้านความยาวเปลือก และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในแต่ละการทดลองไม่มีความแตกต่างกันแต่อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของหอยหวานมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ($P<0.05$) โดยอาหารผสมที่เสริมนิวคลีโอไทด์ 2% บริเวอร์ยีสต์ 1% และบริเวอร์ยีสต์ 2% มีอัตราแลกเนื้อต่ำที่สุด เท่ากับ 1.05, 1.05 และ 1.06 ตามลำดับ โดยอาหารผสมที่เสริมนิวคลีโอไทด์ 1% และอาหารสูตรควบคุมมีอัตราแลกเนื้อที่สูงกว่าโดยเท่ากับ 1.22 อัตราการรอดตายสุดท้ายของหอยหวานในทุกการทดลองไม่มีความแตกต่างกัน โดยทุกการทดลองมีอัตราการรอดเกิน 97% (97.78%-100%) สำหรับการทดสอบความสามารถในการต้านทานโรคของหอยหวานที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ในสัดส่วนที่ต่างกัน โดยการฉีด *Vibrio alginolyticus* ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับค่า LD_{50} ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าในเดือนที่ 1 อาหารผสมที่เสริมบริเวอร์ยีสต์ 1% มีอัตราการรอด และประสิทธิภาพการต้านทานต่อโรคดีที่สุด คือร้อยละ 90.00 ± 22.36 และร้อยละ 84.62 เช่นเดียวกับเดือนที่ 4 (สิ้นสุดการทดลอง) ซึ่งมีอัตราการรอด และประสิทธิภาพการต้านทานต่อโรคดีที่สุด คือร้อยละ 80.00 ± 20.92 และร้อยละ 76.92

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต ชัชรียา เชยชม

ปีการศึกษา 2552 ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

4972274423 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEYWORDS : *Babylonia areolata* / Vibriosis / Nucleotide / Brewer's yeast

CHATCHAREEYA CHEYCHOM : EFFECTS OF BREWER'S YEAST AND DIETARY NUCLEOTIDES ON GROWTH AND SURVIVAL RATE OF SPOTTED BABYLON *Babylonia areolata*. ADVISOR : ASSOC. PROF. SOMKIAT PIYATIRATITIVORAKUL, 80 pp.

The objective of this study is to evaluate the effect of supplemented brewer's yeast (1% and 2%) and nucleotides (1% and 2%) on growth and survival of Spotted Babylon (*Babylonia areolata*) in a flow-through seawater system during a period of 4 months. The density of spotted babylon used was 214 individuals/m^2. Growth in shell length and weight gain were not different among the treatments. Feed conversion ratio (FCR) was significantly different ($P<0.05$). The diets supplemented with 2% nucleotide, 1% brewer's yeast and 2% brewer's yeast provided lower FCR at 1.05, 1.05 and 1.06 respectively. The diet with supplemented 1% nucleotide and control diet provided a higher FCR of 1.22. The final survival rates in all treatments were not different (97%-100%). On the vibriosis resistance test, median lethal dose (LD_{50}) of *Vibrio alginolyticus* was intramuscularly injected to Spotted Babylon fed different treatment diets and raised for 24 hours. The results showed that Spotted Babylon fed 1% brewer's yeast for 1 month had the highest % survival rate and relative percent survival (RPS) at 90.00 ± 22.36% and 84.62 % respectively. The result for the 4 month-rearing spotted Babylon also showed the similar trend with 80.00 ± 20.92 %survival rate and 76.92 %RPS.

Field of Study : Biotechnology Student's Signature ชัชรีย์ เชยชม

Academic Year : 2009 Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีระธิติวรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ อบรมสั่งสอนให้กำลังใจ และช่วยตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ ที่ให้คำแนะนำตลอดระยะเวลาในการเลี้ยง รวมทั้งให้คำแนะนำต่างๆ และโอกาสโดยเสมอมา

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิติธรรมยง ดร.มะลิ บุณยรัตผลิน ดร.ศิราวุธ กลิ่นบุหงา สำหรับคำแนะนำ และร่วมเป็นประธานและกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.วีณา เคยพุดซา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตว-แพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความรู้ และคำแนะนำ และให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือปฏิบัติในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ คุณมาลินี กิตกำธร หน่วยวิจัยโรคสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ ในการปฏิบัติในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ คุณสราวุธ แสงสว่างโชติ คุณวรรณณี แสนทวีสุข คุณทศพล สังข์ศิรินทร์ และนายยงค์ยุทธ จันทร์แก้ว ที่ให้ความช่วยเหลือ แนะนำ และให้กำลังใจระหว่างปฏิบัติการเลี้ยงหอยหวานมาโดยตลอด

ขอขอบคุณ คุณเสรี ดอนเหนือ ที่ให้ความช่วยเหลือที่ให้คำแนะนำในการทำอาหาร และจัดหาวัตถุดิบสำหรับทำการวิจัย

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิต ในการอนุเคราะห์ค่าใช้จ่ายตลอดระยะเวลาการทำวิทยานิพนธ์

ขอบคุณสัตว์ทดลองทุกชีวิตที่เสียสละตนในการทดลองครั้งนี้ได้สำเร็จลุล่วงตามความตั้งใจ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และญาติพี่น้องที่คอยให้กำลังใจ ช่วยเหลือ สนับสนุนทุกสิ่งทุกอย่างด้วยความเมตตา และความรักมาโดยตลอดในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ฌ

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 3

1.2 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 3

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 5

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 16

3.1 สถานที่วิจัย..... 16

3.2 การวางแผนการทดลอง..... 16

3.3 การเตรียมระบบเลี้ยง..... 16

3.4 สัตว์ทดลอง..... 17

3.5 อาหารทดลอง..... 17

3.6 ขั้นตอนการเตรียมอาหาร..... 18

3.7 การเลี้ยงหอยหวาน..... 21

3.8 การทดสอบความสามารถในการต้านทานโรค..... 23

3.9 การประเมินผล และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ..... 24

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล..... 27

4.1 การทดสอบความคงสภาพของอาหาร..... 27

4.2 ผลของการเสริมบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ในอาหารผสมต่อ
ความยาวเปลือกของหอยหวาน..... 29

4.3 ผลของการเสริมบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ในอาหารผสมต่อ
การเจริญเติบโตโดยน้ำหนักของหอยหวาน..... 31

4.4 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ..... 33

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

4.5 อัตราการรอดของหอยหวาน (เปอร์เซนต์) 34
4.6 ประสิทธิภาพการต้านทานต่อโรค (Relative Percent Survival, RPS) 34
4.7 คุณภาพน้ำทะเล..... 37
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ..... 38
รายการอ้างอิง..... 42
ภาคผนวก ก..... 46
ภาคผนวก ข..... 54
ภาคผนวก ค..... 57
ภาคผนวก ง..... 64
ภาคผนวก จ..... 68
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 80

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 โรคติดเชื้อจากแบคทีเรียในหอยและหมึก..... 8
ตารางที่ 2 อาการของหอยเมื่อคุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลง..... 9
ตารางที่ 3 ส่วนประกอบขององค์ประกอบชนิดและปริมาณของสารอาหารที่ใช้ในการทดลอง 19
ตารางที่ 4 คุณภาพและคุณสมบัติของอาหารทดลอง 5 สูตร..... 27
ตารางที่ 5 การเติบโตด้านความยาวเปลือกเฉลี่ย (เซนติเมตร) ของหอยหวานในแต่ละสูตรอาหารเป็นระยะเวลา 4 เดือน..... 29
ตารางที่ 6 อัตราการเจริญเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ย (เซนติเมตร) การเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือกและอัตราการเจริญเติบโตโดยความยาวเปลือกของหอยหวานแต่ละชุดการทดลอง..... 29
ตารางที่ 7 ร้อยละของความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้นของหอยหวานในแต่ละสูตรอาหารเป็นระยะเวลา 4 เดือน..... 30
ตารางที่ 8 การเติบโตด้านน้ำหนักเฉลี่ยของหอยหวานในแต่ละสูตรอาหารเป็น ระยะเวลา 4 เดือน..... 31
ตารางที่ 9 อัตราการเจริญเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ย การเพิ่มขึ้นโดยน้ำหนักและอัตราการเจริญเติบโตโดยน้ำหนักของหอยหวานแต่ละชุดการทดลอง 31
ตารางที่ 10 ร้อยละของน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นของหอยหวานในแต่ละสูตรอาหารเป็นระยะเวลา 4 เดือน..... 32
ตารางที่ 11 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของหอยหวานในแต่ละสูตรอาหารเป็นระยะเวลา4 เดือน..... 33
ตารางที่ 12 อัตราการรอดของหอยหวาน (เปอร์เซนต์) ในแต่ละสูตรอาหารเป็นระยะเวลา 4 เดือน..... 34
ตารางที่ 13 ประสิทธิภาพการต้านทานต่อโรค (Relative Percent Survival, RPS) และอัตรารอดของหอยหวานในแต่ละสูตรอาหารในเดือนที่ 1..... 35
ตารางที่ 14 ประสิทธิภาพการต้านทานต่อโรค (Relative Percent Survival, RPS) และอัตรารอดของหอยหวานในแต่ละสูตรอาหารในเดือนที่ 4..... 36
ตารางที่ 15 คุณภาพน้ำทะเลในการเลี้ยงหอยหวานในระบบน้ำไหลผ่านตลอด..... 37
ตารางที่ 16 ปริมาณเชื้อ V. alginolyticus ที่ทำให้หอยหวานตาย 50% ภายใน 24 ชั่วโมง (LD_{50}) 55

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 17 Descriptive คุณค่างทางโภชนาการของอาหารหอยหวานแต่ละสูตร..... 57
ตารางที่ 18 ตาราง ANOVAของ คุณค่างทางโภชนาการของอาหารหอยหวานแต่ละสูตร.. 60
ตารางที่ 19 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของโปรตีน…….. 61
ตารางที่ 20 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของไขมัน…….. 61
ตารางที่ 21 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของเถ้า…….. 62
ตารางที่ 22 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของเยื่อใย…….. 62
ตารางที่ 23 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของความชื้น…….. 63
ตารางที่ 24 Descriptive อัตราการรอดของหอยหวานในการต้านทานเชื้อ *Vibrio alginolyticus* ในเดือนที่ 1…….. 64
ตารางที่ 25 ตาราง ANOVA ของอัตราการรอดของหอยหวานในการต้านทานเชื้อ *Vibrio alginolyticus* ในเดือนที่ 1…….. 65
ตารางที่ 26 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของอัตรารอดในเดือนที่ 1…. 65
ตารางที่ 27 Descriptive อัตราการรอดของหอยหวานในการต้านทานเชื้อ *Vibrio alginolyticus* ในเดือนที่ 4…….. 66
ตารางที่ 28 ตาราง ANOVA ของอัตราการรอดของหอยหวานในการต้านทานเชื้อ *Vibrio alginolyticus* ในเดือนที่ 4…….. 67
ตารางที่ 29 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของอัตรารอดในเดือนที่ 4.... 67
ตารางที่ 30 Descriptive ความยาวเปลือกเฉลี่ย ค่าการเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือก อัตราการเจริญเติบโตโดยความยาวเปลือก และร้อยละของความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้นของหอยหวาน…….. 68
ตารางที่ 31 ตาราง ANOVAของความยาวเปลือกเฉลี่ย ค่าการเพิ่มขึ้นโดยความยาว-เปลือก อัตราการเจริญเติบโตโดยความยาวเปลือก และร้อยละของความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้นของหอยหวาน…….. 70
ตารางที่ 32 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของความยาวเปลือกเฉลี่ย... 70
ตารางที่ 33 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของค่าการเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือก…….. 71
ตารางที่ 34 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของอัตราการเจริญเติบโตโดยความยาวเปลือก…….. 71

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 35 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของร้อยละของความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้น 72

ตารางที่ 36 Descriptive การเจริญเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ย ค่าการเพิ่มขึ้นโดยน้ำหนัก อัตราการเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก และร้อยละของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของหอยหวาน..... 73

ตารางที่ 37 ตาราง ANOVA ของการเจริญเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ย ค่าการเพิ่มขึ้นโดยน้ำหนัก อัตราการเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก และร้อยละของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของหอยหวาน..... 75

ตารางที่ 38 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของการเจริญเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ย..... 75

ตารางที่ 39 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของค่าการเพิ่มขึ้นโดยน้ำหนัก 76

ตารางที่ 40 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของอัตราการเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก..... 76

ตารางที่ 41 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของร้อยละของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น..... 77

ตารางที่ 42 Descriptive ของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ..... 78

ตารางที่ 43 ตาราง ANOVA ของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ..... 79

ตารางที่ 44 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ..... 79

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ความแตกต่างระหว่างหอยหวาน และหอยหมาก..... 6
ภาพที่ 2 ระบบทางเดินอาหารของหอยหวาน..... 11
ภาพที่ 3 แผนผังของระบบบ่อเลี้ยงหอยหวาน..... 17
ภาพที่ 4 บ่อทดลองระบบน้ำทะเลไหลผ่านตลอด (flow-through system water)..... 18
ภาพที่ 5 ขั้นตอนการเตรียมอาหาร..... 20
ภาพที่ 6 การเลี้ยงหอยหวานด้วยอาหารผสมแบบกึ่งเปียก..... 22
ภาพที่ 7 การศึกษาการเติบโตโดยการวัดความยาวเปลือกและน้ำหนักหอยเป็นรายตัว.. 22
ภาพที่ 8 ชุดตรวจสอบคุณภาพน้ำ..... 26
ภาพที่ 9 การเปรียบเทียบการคงสภาพของอาหารที่ระยะเวลา 1 ชั่วโมง..... 28
ภาพที่ 10 การเปรียบเทียบการคงสภาพของอาหารที่ระยะเวลา 2 ชั่วโมง..... 28
ภาพที่ 11 การเปรียบเทียบการคงสภาพของอาหารที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง..... 28
ภาพที่ 12 ร้อยละของความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้นของหอยหวานในแต่ละชุดการทดลอง... 30
ภาพที่ 13 ร้อยละของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของหอยหวานในแต่ละชุดการทดลอง..... 32
ภาพที่ 14 หอยหวานภายหลังการเหนี่ยวนำด้วยเชื้อ *V. alginolyticus*..... 36
ภาพที่ 15 Standard curve ของ *Vibrio alginolyticus*..... 54

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันประเทศไทยมีแนวโน้มในการบริโภค และส่งออกอาหารทะเลเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง หอยหวานเป็นสัตว์เศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่ได้รับความนิยมบริโภคสูงทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ หอยหวานแพร่กระจายทั่วไปบริเวณอ่าวไทย ในบริเวณที่มีพื้นทะเลเป็นทรายหรือทรายปนโคลนที่ระดับความลึก 5 – 20 เมตร ซึ่งแต่เดิมผลผลิตหอยหวานส่วนใหญ่ได้จากเครื่องมือประมงประเภทลอบดักจากธรรมชาติ ซึ่งการประมงอย่างต่อเนื่องส่งผลให้ประชากรหอยหวาน *Babylonia areolata* ในแหล่งน้ำธรรมชาติลดลงอย่างรวดเร็ว และทำให้ผลผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ส่งผลโดยตรงต่อราคาหอยหวานที่สูงขึ้นอยู่ในช่วงกิโลกรัมละ 202 - 261 บาท (Panichasuk,1996) ; Chaitanawisuti et al., 2002) จึงเกิดความสนใจในการเพาะเลี้ยงหอยหวานเพื่อเป็นการเพิ่มการตอบสนองทางการตลาด และเพื่อป้องกันการประมงหอยหวานจากทะเลที่มีมากเกินศักยภาพการผลิตของทะเล

ความจำเป็นขั้นพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเชิงพาณิชย์ต้องมีการศึกษาข้อมูลด้านความต้องการอาหารของสัตว์น้ำ เนื่องจากอาหารเป็นปัจจัยหลักที่สามารถส่งผลต่อการเติบโต สุขภาพ และการรอดตาย ซึ่งสัตว์น้ำที่ได้รับคุณค่าอาหารที่เหมาะสมกับความต้องการจะมีความแข็งแรง การเติบโต และอัตราการรอดสูงขึ้น งานวิจัยที่ศึกษาในเรื่องอัตราการให้อาหารต่อการเติบโต และการรอดของหอยหวาน พบว่าการเลี้ยงหอยหวานในระบบน้ำทะเลไหลผ่านตลอดจะไม่มีความมแตกต่างในด้านความยาวเปลือก และอัตราการเติบโต เมื่อได้รับอาหาร 2 ครั้ง และ 3 ครั้งต่อวัน สำหรับอัตราการให้อาหารที่ 10% และ 15% ต่อน้ำหนักตัวหอยหวาน โดยมีอัตราการรอดของหอยหวานเป็น 96.9 เปอร์เซนต์และ 97.3 เปอร์เซนต์ตามลำดับ แต่อัตราการรอดของหอยหวานที่ให้อาหาร 5 % จะดีกว่าการให้อาหารเพียง 3 %ของน้ำหนักตัว (Chaitanawisuti and Kritsanapuntu, 1999; Chaitanawisuti et al., 2001) การเพาะเลี้ยงหอยหวานในประเทศไทยส่วนใหญ่นิยมใช้ปลาสดเป็นอาหาร เนื่องจากมีราคาค่อนข้างถูกและสามารถหาได้ง่ายแต่การให้ปลาสดจะมีข้อจำกัดในแง่ของระยะเวลาในการเก็บรักษาสั้นทำให้ต้องจัดหาบ่อยครั้ง คุณค่าทางโภชนาการไม่ครบถ้วนตามที่หอยต้องการ และเศษอาหารสดที่เหลือยังก่อให้เกิดมลภาวะในแหล่งน้ำ ก่อให้เกิดโรคได้ง่าย (ขนิษฐา, 2540) นอกจากนี้การเลี้ยงหอยหวานด้วยปลาข้างเหลือง ปลาเป็ด หรือปลาเลย ตลอดระยะเวลาในการเลี้ยง 6-8 เดือน

ในช่วงมรสุมประสบปัญหาการขาดแคลนซึ่งราคาปลาเหยื่อแพง และคุณภาพไม่ดี เกิดการเน่าเสียของปลาเหยื่อ เมื่อนำมาใช้เลี้ยงหอยหวานจึงส่งผลต่อคุณภาพน้ำที่ใช้ในระบบเลี้ยง และการเติบโตของหอยหวานต่ำลง (นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์, 2545) ดังนั้นการนำอาหารสำเร็จรูปที่เสริมสารอาหารที่จำเป็นต่อการเติบโตและสุขภาพของหอยหวาน เช่น บริเวอร์ยีสต์และนิวคลีโอไทด์จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่เหมาะสมในการหลีกเลี่ยงปัญหาที่เกิดขึ้นในระบบเพาะเลี้ยงหอยหวาน รวมถึงเป็นการยกระดับคุณค่าทางโภชนาการในอาหารของสัตว์น้ำให้สูงขึ้นอีกด้วย

เนื่องจากหอยหวานตั้งแต่ระยะลงพื้นจนถึงระยะตัวเต็มวัยกินซากสัตว์ที่ตายแล้วเป็นอาหารทั้งในสภาพสด และไม่สด (นิลนาจ และศิรุษา, 2545) โดยหอยหวานจะสามารถรับรู้ถึงกลิ่น และรสชาติของอาหารได้ ดังนั้นอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงหอยหวานจึงควรมีสารดึงดูดให้เข้ามากินอาหาร ได้แก่ กลุ่มกรดอะมิโน เช่น glutamate (Diehl, 2004), betaine (Kasumyan and Doving, 2003) และ glycine ซึ่งแตกต่างจากสารดึงดูดที่ใช้ในอาหารปลาที่เป็นกรดไขมัน (มะลิ บุณยรัตผลิน, 2531)

สัตว์น้ำสามารถใช้ประโยชน์จากโปรตีนที่อยู่ในรูปของนิวคลีโอไทด์ ซึ่ง NuPro® เป็นตัวแทนของแหล่งที่มีนิวคลีโอไทด์ปริมาณมาก นิวคลีโอไทด์ส่วนใหญ่ใน NuPro® จะอยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ ทำให้ง่ายต่อการดูดซึมไปใช้มากกว่านิวคลีโอไทด์ที่อยู่ในรูปที่ละลายน้ำไม่ได้เช่น นิวคลีโอโปรตีน อีกทั้งมี glutamic acid, glutamate และ active nucleotides เช่น 5'-IMP และ 5'-GMP เป็นตัวเพิ่มรสชาติให้กับอาหาร กระตุ้นการกิน เพิ่มความอยากอาหารของสัตว์น้ำ และทำให้สัตว์น้ำมีภูมิต้านทานสูงขึ้น (Diehl, 2004) Takeda and Takii (1992) รายงานว่าอาหารที่เสริมด้วยกรดอมิโน และนิวคลีโอไทด์สามารถกระตุ้นการกินอาหาร และเพิ่มการเติบโตของปลาไหลญี่ปุ่น (*Anguilla japonica*) อย่างไรก็ตาม Quan, 1992 พบว่า immune cells และ intestinal cells ไม่สามารถสังเคราะห์ nucleotides ได้เองจึงต้องรับnucleotide มาจากแหล่งอื่น เช่น ปลาป่น พืชตระกูลถั่ว ยีสต์สกัด และสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว (unicellular organisms) เช่น ยีสต์ และ แบคทีเรีย ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบระหว่างยีสต์ล้วนกับยีสต์สกัดพบว่าความสามารถในการย่อยได้ของยีสต์สกัดจะสูงกว่ามาก ซึ่งได้เปรียบกว่าโปรตีนที่ละลายได้เพราะถึงแม้ว่าจะมีความสามารถในการละลายที่สูงกว่า แต่ก็ถูกชะให้ละลายไปได้ง่าย (Devresse, 2000)

บริเวอร์ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) เป็นผลผลิตพลอยได้ที่ได้จากกระบวนการผลิตเบียร์ ซึ่งบริเวอร์ยีสต์ มีสารที่มีผลต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในปลาบางชนิด เช่น rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) และ gilthead sea bream (*Sparus auratus*)

(Siwicki, Anderson & Rumsey 1994) มลฤดี สิทธิพันธ์ และคณะ (2543) ได้ประยุกต์ใช้ ß-glucan ที่สกัดจากผนังเซลล์ยีสต์เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำ พบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาร ß-glucan ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ให้ผลการทดลองดีที่สุดโดยมีความสามารถในการต้านทานเชื้อ *Vibrio harveyi* โดยคิดเป็นอัตราการรอดตายเท่ากับ 90% Li & Gatlin, 2004 พบว่าการผสมบริเวอร์ยีสต์ 2% สามารถช่วยเร่งการเติบโตได้อย่างมาก และการเสริมบริเวอร์ยีสต์ในปริมาณน้อยจะส่งผลในเชิงบวกในด้านการเติบโตภายใต้สภาวะปกติ ดังนั้นจะเห็นว่าเมื่อเสริมบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ลงในอาหารสัตว์น้ำจึงมีประโยชน์ในการส่งผลต่อการเติบโต และสุขภาพของสัตว์น้ำที่เพิ่มสูงขึ้น

การวิจัยนี้จึงศึกษาผลของบริเวอร์ยีสต์ และ นิวคลีโอไทด์ในสัดส่วนที่เหมาะสมในการเลี้ยงหอยหวานให้มีการเติบโต และการรอดสูงขึ้นเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาคุณภาพของอาหารสำเร็จรูปแบบจมน้ำ ในการเพาะเลี้ยงหอยหวานต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาผลของการเสริมบริเวอร์ยีสต์ และ นิวคลีโอไทด์ ในสัดส่วนที่เหมาะสมในอาหารผสมต่อการเติบโตและการรอดตายของหอยหวาน
2. ศึกษาความสามารถในการต้านทานโรคของหอยหวานที่เลี้ยงหอยหวานด้วยอาหารผสมเสริม บริเวอร์ยีสต์ และ นิวคลีโอไทด์ในสัดส่วนที่ได้ในข้อ 1

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้อาหารผสมเสริมบริเวอร์ยีสต์และนิวคลีโอไทด์ที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มการเติบโต และอัตราการรอดของหอยหวาน

สามารถลดความเสี่ยงและโอกาสในการเกิดโรควิบริโอขึ้นในหอยหวานโดยการเลี้ยงหอยหวานด้วยอาหารผสมเสริมบริเวอร์ยีสต์และนิวคลีโอไทด์

สามารถสร้างมูลค่าเพิ่มของบริเวอร์ยีสต์ที่เป็นผลผลิตพลอยได้จากการผลิตเบียร์มาใช้ประโยชน์ในวงการอาหารสัตว์น้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

หอยหวาน (หอยตุ๊กแก หรือหอยเทพรส) มีชื่อสามัญภาษาอังกฤษว่า Spotted - Babylon จำแนกตามหลักอนุกรมวิธาน ดังนี้

Phylum	Mollusca
Class	Gastropoda
Subclass	Prosobranchia
Order	Neogastropoda
Family	Buccinidae
Genus	Babylonia
Species	*Babylonia areolata* Link 1807

หอยหวานเป็นหอยฝาเดียวที่มีเปลือกหนา เปลือกมีพื้นสีขาวมีแต้มสีน้ำตาลปนดำ ขนาดใหญ่เรียงเป็นแถวบนวงลำตัว บริเวณปลายสุดของเปลือกจะแหลม โดยส่วนหัวจะขดเป็นเกลียว และมีร่องที่ไม่ลึกมากนัก มีฝาปิดเปลือก (operculum) รูปทรงไข่ที่สามารถปิดช่องเปิดลำตัวได้อย่างสนิท มีแทนทาเคิล (tentacle) และตาอยู่ที่ปลายแทนทาเคิลอย่างละ 1 คู่ มีท่อดูดอาหารคล้ายงวง (proboscis) 1 อัน

หอยหวานอาศัยอยู่บริเวณพื้นทะเลที่เป็นทราย หรือทรายปนโคลนที่ระดับความลึก 5-20 เมตร ความเค็มประมาณ 28-35 พีพีที หอยหวานแพร่กระจายจากมหาสมุทรอินเดียฝั่งตะวันออกของอินโดนีเซียตอนใต้ มาเลเซีย ไทย กัมพูชา เวียดนาม ถึงไต้หวัน โดยประเทศไทยพบหอยหวานในบริเวณชายทะเลฝั่งอ่าวไทย ได้แก่ จังหวัดระยอง จันทบุรี ตราด เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช เป็นต้น ส่วนฝั่งอันดามัน จะพบหอยหวานชนิด *Babylonia spirata* Linnaeus 1758 มีชื่อสามัญว่า หอยหมาก ซึ่งมีลักษณะคล้ายหอยหวานแต่แตกต่างกับหอยหวานที่สีพื้นของเปลือกที่เข้มกว่า สีแต้ม และร่องเปลือก (ภาพที่ 1) (นิลนาจ

ชัยธนาวิสุทธิ์, 2545) หอยหวานตัวโตเต็มวัยเป็นสัตว์ที่กินซากสัตว์ด้วยกัน (scavenger feeding) ซึ่งหอยหวานระยะโตเต็มวัยจะกินอาหารจำพวกเนื้อสัตว์ทุกชนิดโดยใช้งวงปาก (Proboscis) เจาะเข้าไปในอาหารแล้วจึงปล่อยน้ำย่อยออกมาย่อยอาหารหลังจากนั้นจึงดูดอาหารกลับเข้าสู่ร่างกาย

a. b.

ภาพที่ 1 a. หอยหวาน (*Babylonia areolata*) , b. หอยหมาก (*Babylonia spirata*)

ที่มา; http://www.seashellworld.com

2.1 วงจรชีวิต

หอยหวานเป็นสัตว์ที่มีเพศแยก (dioecious) คือ เพศผู้และเพศเมียไม่ได้อยู่ในตัวเดียวกัน การผสมพันธุ์เกิดขึ้นโดยการจับคู่ระหว่างเพศผู้และเพศเมีย เมื่อไข่ได้รับการผสมในท่อนำไข่ และถูกห่อหุ้มด้วยฝักไข่แล้วจะถูกปล่อยออกสู่ภายนอกร่างกาย เพศเมียมี pedal gland ที่บริเวณเท้าทำหน้าที่ผลิตเมือกสำหรับยึดฝักไข่ให้ติดกับวัสดุอื่น ส่วนเพศผู้สามารถจำแนกโดย สังเกตจากอวัยวะที่มีรูปร่างคล้ายติ่งรูปใบไม้ (leaflet shape) สีเหลืองอ่อนบริเวณโคนหนวดด้านขวา ไข่ที่ปฏิสนธิแล้วจะพัฒนาเป็นลูกหอยระยะพัฒนาที่เรียกว่า Trocophore ภายใน 24 ชั่วโมงหลังการวางไข่ลูกหอยระยะนี้จะเจริญอยู่ภายในฝักไข่เป็นเวลา 4-5 วัน เป็น Veliger จึงฟักออกจากฝักไข่และดำรงชีพแบบแพลงก์ตอนล่องลอยอยู่ในมวลน้ำ โดยจะเจริญเข้าสู่ลูกหอยระยะลงพื้น (settled juveniles) ภายในเวลา 14-16 วัน (นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์, 2545) ตัวอ่อนที่

ลงเกาะใหม่มีความกว้างและความยาวของเปลือกโดยเฉลี่ย 1.16 และ 1.52 มิลลิเมตร ตามลำดับ อัตราการเติบโตของตัวอ่อนที่ลงเกาะแล้วมีความยาวและน้ำหนักเพิ่มขึ้น 4.26 มิลลิเมตร/เดือน ตามลำดับ (Chaitanawisuti and Kritsanapuntu, 1997)

2.2 โรคและพาราสิตหอยหวาน

โรคในหอยหวานจัดเป็นปัญหาสำคัญในการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ เนื่องจากสามารถก่อให้เกิดความเสียหายในแง่ของการเติบโต อัตราการรอด และความเพียงพอของปริมาณหอยหวานที่ป้อนเข้าสู่ตลาด

โรคของหอยสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ โรคติดเชื้อ และโรคไม่ติดเชื้อ

Perkins (2000) กล่าวว่าโรคติดเชื้อที่สำคัญในหอยมีดังนี้

2.2.1. โรคติดเชื้อ

2.2.1.1 ไวรัส (Virus) โรคจากไวรัสในหอยมีประมาณ 20 ชนิด (Sindermann, 1970) ซึ่งมีชนิดที่สำคัญได้แก่

RNA virus (Birmavirus) มีขนาด 55-60 นาโนเมตร ซึ่งทำให้เกิดการบวมน้ำ (edema) ที่บริเวณเนื้อเยื่อรอบกระเพาะอาหาร ทำให้หอยมีอัตราการตายสูง

Retrovirus-like particle มีขนาด 120 นาโนเมตร ทำให้หอยเกิดเนื้องอก (hemic neoplasia หรือ disseminated sarcoma) ทำให้หอยตายได้อีกสาเหตุหนึ่ง

Iridovirus-like particle มีขนาด 350 นาโนเมตร ไวรัสนี้พบในเหงือกหอยทำให้หอยตายจำนวนมาก เมื่อต้นปี 1970 ที่ประเทศฝรั่งเศส

Herpes-like virus มีขนาด 70-90 นาโนเมตร พบที่แอ่งเลือด (hemolymph sinuses) ไวรัสชนิดนี้ทำให้หอยตาย 18-52%

Oyster velar virus disease (OVVD) มีขนาด 228 นาโนเมตร ไวรัสชนิดนี้พบที่ปากและหลอดอาหาร โดยทำให้บริเวณที่มีการติดเชื้อบวม (swelling) และบริเวณผิวลอกหลุด (detachment) ซึ่งทำให้หอยตายได้มากถึง 50%

2.2.1.2 แบคทีเรีย (Bacteria) โรคที่เกิดจากแบคทีเรียส่วนใหญ่เกิดจากแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive) และแบคทีเรียแกรมลบ (Gram-negative) บางชนิด เช่น แบคทีเรียในกลุ่มวิบริโอ (*vibrio* sp.) Friedman และ Hedrick (1991) รายงานว่าแบคทีเรียในกลุ่มนี้คือ *V. anguillarum, V. alginolyticus, V. harveyi* และ *V. tubiashii* ซึ่งทำให้เกิดจุดเนื้อตาย (focal necrosis) หรือทำให้เกิดฝี (abscesses) บริเวณลำไส้ (digestive tract)

ในลูกหอยวัยอ่อน (larval stage) แบคทีเรียในกลุ่มวิบริโอ ทำให้เกิดโรควิบริโอซีส (Vibriosis) ซึ่งทำให้ลูกหอยตาย 100% ภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อตรวจคุณภาพน้ำจะพบว่ามีปริมาณแบคทีเรียในกลุ่มวิบริโอมากกว่า 1 แสนเซลล์ต่อมิลลิลิตร (>10^5 cfu/mL)

Aeromonas hydrophila ก่อให้เกิดการติดเชื้อที่หนวด (tentacles) บริเวณหัวและตัวของหอย Mead (1963) รายงานว่าหอยจะตายด้วยการติดเชื้อ *A. hydrophila* ประมาณ 85%

แบคทีเรียชนิดที่ก่อให้เกิดโรคในหอยแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 โรคติดเชื้อจากแบคทีเรียในหอยและหมึก (Khardori and Fainstein, 1988)

Name of Disease	Causative Agent	Hosts
Gastropod acid-fast bacteremia	Unidentified acid-fast bacilli	Snails: *Biomphalaria glabrata* *B. pfeifferi, Helisoma aceps*
American oyster vibrio cardiac edema or cardiac vibriosis	*V. anguilarum*	Oyster: *Crassostrea virginica*
-	*Achromobacter* sp.	Oyster: *Crassostrea gigas*
Vibriosis of juvenile oysters	*Vibrio* sp.	Oyster: *C. virginica* *Ostrea edulis* Clam: *Mercenaria mercenaria*
-	*Leucothrix mucor*	Clam: *Cardium edule*
Mycelial disease	Unidentified actinomycete	Oysters: *C. virginica* *Ostrea lurida*
Juvenile abalone vibriosis	*V. alginolyticus*	Abalone: *Haliotis rufescens*
-	Opportunistic Gram-negative bacteria	Squid: *Loligo pealei, L. plei* *L. opalesceni* *Lolliguncula brevis* *Ommastrephes pteropus*

2.2.1.3 รา (Fungi) เชื้อราจะเจริญเติบโตบริเวณเปลือกหอย เมื่อเชื้อราสร้างเส้นใยมากขึ้นจะลามเข้าไปด้านใน ทำให้บริเวณที่ติดเชื้อเกิดการระคายเคือง (irritation of the mantle) เกิดการสะสมของแคลเซียม และทำให้เปลือกหอยบิดเบี้ยวไป (shell distortion)

2.2.1.4 พยาธิ (Parasite) ที่สำคัญเป็นพยาธิในกลุ่มสัตว์เซลล์เดียว(protista) เช่น *Perkinsus marinus* และ *Haplosporidia* spp. ซึ่งมีรายงานว่าหอยที่ติดเชื้อจะเกิดการตายจำนวนมาก (Perkins, 1990)

2.2.2 โรคไม่ติดเชื้อ Cheng (2000)

โรคในหอยที่ไม่เกิดการติดเชื้อมาจากหลายสาเหตุหลายประการ ได้แก่

2.2.2.1 การขาดสารอาหาร (Nutritional deficiencies)

2.2.2.2 ความผิดปกติจากพันธุกรรม (Genetic abnormalities)

2.2.2.3 เนื้องอก (Neoplastic disease)

2.2.2.4 สารพิษ(Toxicological disease) ซึ่ง FAO (1990) รายงานว่าสารอินทรีย์ ที่ถือว่าเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมในทะเลและทำให้สัตว์น้ำตาย ได้แก่ ยาฆ่าแมลงที่มีส่วนประกอบของ Chlorinated hydrocarbon และ Dichlorodiphenyl trichloroethane(DDT) หรือPolychlorinated biphenel (PCB) ที่มีโครงสร้างเหมือน DDT อีกทั้งสารพิษที่เกิดจาก inorganic tooricants ได้แก่ ไซยาไนด์ ปรอท ตะกั่ว สารหนู ทองแดง สังกะสี และแคดเมียม ซึ่งสารพิษเหล่านี้จะสะสมอยู่ในหอย และเมื่อถึงระดับหนึ่งจะทำให้หอยตาย

2.2.2.5 คุณภาพน้ำ เช่น แอมโมเนีย ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 อาการของหอยเมื่อคุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลง (Arringnon, 1999)

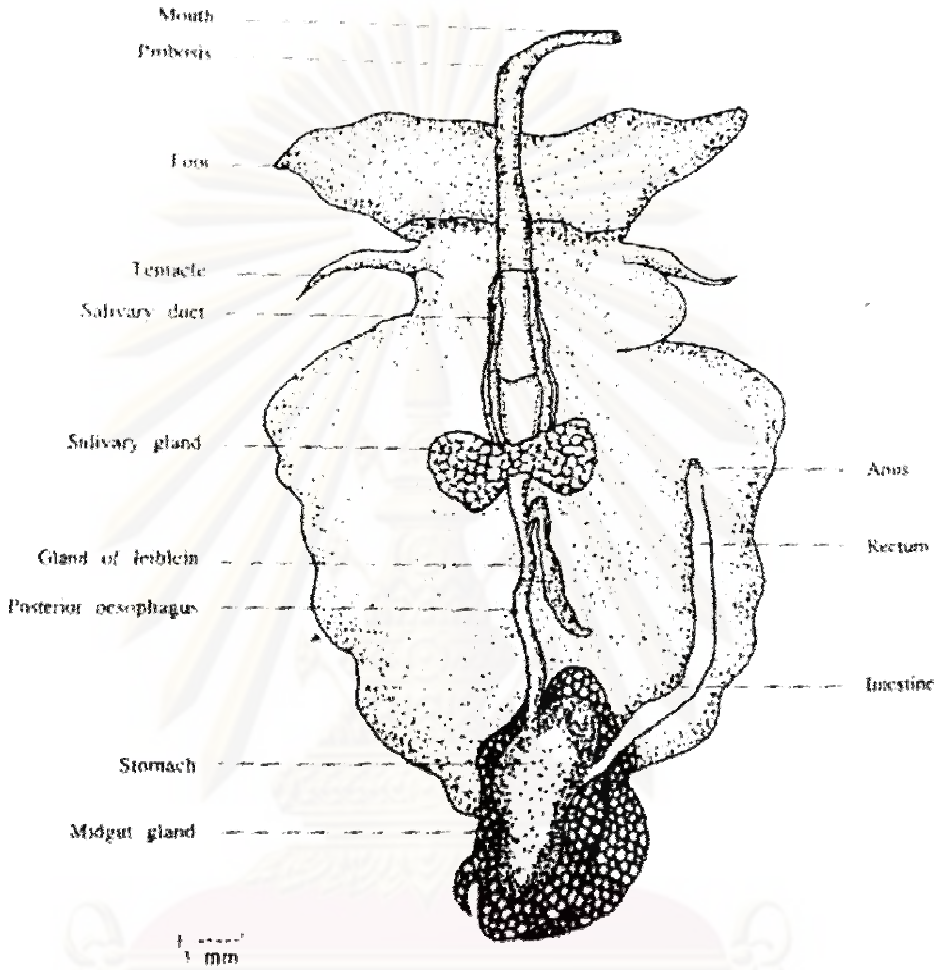
คุณภาพน้ำ	อาการ						
	ตายทันที	ตายกลางคืน	ตายกลางวัน	เจริญเติบโตช้า	ไม่กินอาหาร	เกิดโรคแทรกจากแบคทีเรีย	ตัวอ่อนตาย
อุณหภูมิน้ำ	*	*	*	*	*	*	*
ความเค็ม	*	*	*	*	*	*	*
ความเป็นกรด-ด่าง	*	*	*		*		
ความกระด้าง				*			

คุณภาพน้ำ	อาการ						
	ตายทันที	ตายกลางคืน	ตายกลางวัน	เจริญเติบโตช้า	ไม่กินอาหาร	เกิดโรคแทรกจากแบคทีเรีย	ตัวอ่อนตาย
ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ		*		*	*	*	*
แอมโมเนีย				*	*	*	
ไนไตรท์				*	*	*	
สารพิษในน้ำ	*						*

การเลี้ยงหอยหวานให้มีอัตรารอดสูง เจริญเติบโตเร็ว และปลอดจากโรคมาจากการจัดการสิ่งแวดล้อมในการเลี้ยงหอยหวาน และสุขภาพของหอยหวาน ซึ่งการควบคุมสภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมต่อการดำรงชีพของหอยหวาน โดยสิ่งเหล่านี้เป็นการป้องกันไม่ให้เกิดการสูญเสีย แต่หากมีการตายของหอยเกิดขึ้นควรเก็บหอยที่มีอาการป่วยสามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่าและหอยที่ตายแล้วออกจากบ่อเลี้ยงให้เร็วที่สุดเพื่อป้องกันน้ำเสีย เปลี่ยนถ่ายน้ำเก่าออก นำน้ำที่มีคุณภาพดีเข้าบ่อเลี้ยง งดหรือลดปริมาณอาหารลง แล้วสังเกตอาการของหอยว่าเกิดจากสาเหตุใดและแก้ไขตามสาเหตุต่อไป

2.3 ระบบการย่อยอาหารของหอยหวาน

พฤติกรรมการกินของหอยหวานแบ่งออกเป็น 2 แบบตามช่วงชีวิต คือ ระยะวัยอ่อนมีพฤติกรรมการกินแบบแพลงก์ตอน กินอาหารด้วยการกรอง (filter feeder) โดยกรองกินแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหาร สำหรับหอยหวานระยะลงพื้นถึงระยะตัวเต็มวัยมีการดำรงชีพด้วยการกินซากสัตว์ที่ตายแล้วเป็นอาหาร (scavenger) ซึ่งมีการกินอาหารแบบเป็นกลุ่มก้อน โดยมีอวัยวะที่มีความยืดหยุ่นคล้ายงวงที่เรียกว่า Proboscis ทำหน้าที่ดูดเนื้อสัตว์ที่ได้รับการย่อยโดยน้ำย่อยจากต่อมน้ำย่อยที่บริเวณปาก อาหารจะถูกส่งเข้าไปตามหลอดอาหารเข้าสู่กระเพาะไปยังลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ ซึ่งย่อยไขมัน ดูดซึมน้ำและวิตามินกลับ หลังจากนั้นจึงปล่อยเศษอาหารที่เหลือออกสู่ภายนอกร่างกายทางทวารหนัก (ภาพที่ 2)



ภาพที่2 ระบบทางเดินอาหารของหอยหวาน

ที่มา; นิลนาจ และศิรุยา, 2545

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความต้องการสารอาหาร

การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเชิงพาณิชย์มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องศึกษาด้านความต้องการอาหาร เนื่องจากอาหารเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่มีผลต่อการเติบโตและอัตรารอด ซึ่งสัตว์น้ำที่ได้รับอาหารที่มีความสมดุลทางโภชนาการทั้งปริมาณ และคุณภาพจะทำให้มีการเติบโตดี อัตรารอดสูง ปราศจากโรค และคุ้มค่าต่อการลงทุน นอกจากนี้ลักษณะของอาหารที่ใช้ยังมีผลต่อสภาพแวดล้อมในบริเวณที่ทำการเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศไทยส่วนใหญ่ นิยมใช้ปลาสด เนื่องจากมีราคาค่อนข้างถูกเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสำเร็จรูป และสามารถหาได้ง่ายในท้องถิ่น แต่การใช้ปลาสดมีผลเสีย คือไม่สามารถเก็บรักษาได้นานจึงต้องมีการจัดหาบ่อยครั้ง คุณค่าทางโภชนาการเปลี่ยนแปลงตามชนิดของสัตว์ และฤดูกาลที่จับ มีคุณค่าทางอาหารไม่สมดุลต่อความต้องการ ขาดสารอาหารที่จำเป็นบางชนิดต่อสัตว์น้ำ นอกจากนั้นเศษอาหารที่เหลือจากการกินยังก่อให้เกิดมลภาวะในแหล่งน้ำ ทำให้สัตว์น้ำเติบโตช้า ไม่แข็งแรง และ ติดโรคได้ ดังนั้นการนำอาหารสำเร็จรูปมาใช้ในการเพาะเลี้ยงจึงเป็นอีกทางเลือกที่เหมาะสมในการเลี้ยงสัตว์น้ำที่ต้องการผลผลิตที่ดี และมีคุณภาพ รวมถึงส่งผลกระทบเชิงลบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด

หอยหวานเป็นสัตว์ทะเลที่ต้องการแร่ธาตุและสารอาหารเพื่อนำไปใช้ในการดำรงชีวิต สารอาหารประเภทโปรตีนมีความสำคัญในการเติบโต สร้างเซลล์ใหม่เพื่อซ่อมแซมอวัยวะที่สึกหรอ ถ้าสัตว์น้ำได้รับพลังงานจากอาหารที่เหมาะสม โปรตีนจะถูกนำไปใช้ในการเติบโตได้โดยตรง แต่ถ้าสัตว์ได้รับพลังงานจากอาหารไม่เพียงพอ โปรตีนจะถูกนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานในการดำรงชีวิตด้วย ทำให้ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในการเติบโตของสัตว์ลดลง และ อีกองค์ประกอบที่มีความสำคัญในอาหารสัตว์น้ำคือไขมัน เพราะไขมันเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ ฮอร์โมน และเอนไซม์ อีกทั้งเป็นแหล่งพลังงาน กรดไขมันที่มีความไม่อิ่มตัวสูงสามารถแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ กรดโอเลอิค กรดไลโนเลอิค และกรดไลโนเลนิค เนื่องจากสัตว์น้ำสังเคราะห์ได้ในปริมาณที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการ จึงจำเป็นต้องได้รับจากอาหารด้วย จากการวิจัยของขนิษฐา แสงงาม (2540) พบว่าหอยหวานต้องการโปรตีนระดับ 40% ซึ่งหอยหวานที่ได้รับโปรตีนระดับสูงจะมีอัตราการเติบโตสัมพัทธ์สูงกว่าระดับโปรตีนต่ำ

อาหารสำเร็จรูปเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีข้อดีหลายประการ เช่น ระยะเวลาในการเก็บรักษานาน สามารถรักษาระดับคุณภาพของอาหารให้อยู่ในเกณฑ์ที่สัตว์น้ำต้องการได้อย่างเหมาะสม รวมทั้งความสะดวกในการเสริมสารอาหาร วิตามิน แร่ธาตุที่สัตว์น้ำต้องการได้อย่างเพียงพอ เลี้ยงได้ในพื้นที่ทั่วไปในบริเวณกว้างเนื่องจากการขนส่งสะดวก นอกจากนี้ยังช่วยลดต้นทุนการผลิต ทำให้มีผลตอบแทนในการเลี้ยงสัตว์น้ำเพิ่มขึ้นอีกด้วย (Boonyaratpalin, 1991)

2.4 การเสริมบริเวอร์ยีสต์ในอาหาร

ยีสต์ (yeast) เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวแตกต่างจากสาหร่ายเนื่องจากไม่สามารถสังเคราะห์แสง และแตกต่างจากโปรโตซัว (protozoa) เนื่องจากมีผนังเซลล์ที่แข็งแรง (นงลักษณ์ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2539) ยีสต์บางชนิดมีบทบาทในการประกอบอาหารมนุษย์ เช่น *Saccharomyces carlsbergensis*, *Saccharomyces ellipsoideus* และ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตเบียร์ และไวน์

ยีสต์หลายชนิดสามารถนำมาเลี้ยงโดยการใช้ของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งเป็นการลดปัญหามลภาวะและผลผลิตยีสต์ที่ได้สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์ เช่น การนำยีสต์มาเสริมในอาหารไก่ซึ่งทำให้ไก่มีการเติบโตดีขึ้น เนื่องจากยีสต์ประกอบด้วยธาตุไนโตรเจนประมาณร้อยละ 7-9 ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของโปรตีน ส่วนประกอบอื่นๆ ได้แก่ เพียวรีน (purine) พิริมิดีน (pyrimidime) กรดอะมิโน นิวคลีโอไทด์ วิตามินบีรวม คาร์โบไฮเดรต และไขมัน

ยีสต์มีปริมาณโปรตีนประมาณร้อยละ 40-60 ของน้ำหนักแห้ง และยีสต์ยังมีกรดอะมิโนที่มีลักษณะเด่น คือมีไลซีนสูงแต่มีเมทไธโอนีนต่ำ (Reed and Peppler, 1973) ซึ่งคล้ายคลึงกับกรดอะมิโนในโปรตีนของถั่วเหลือง นอกจากนี้ยีสต์ยังเป็นแหล่งของวิตามิน โดยเฉพาะวิตามินบี ที่มีในปริมาณมากคือ ไธอามีน ไรโบเฟลวิน และไนอาซิน ยีสต์ที่ใช้เป็นอาหารของมนุษย์เรียกว่า food yeast สำหรับยีสต์ที่ใช้เป็นอาหารของสัตว์เรียกว่า fodder yeast ซึ่งมีข้อแตกต่างกันในเรื่องการผลิต กล่าวคือการผลิตยีสต์เพื่อเป็นอาหารของมนุษย์ต้องผ่านขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ (refining) เพื่อให้ได้ยีสต์ที่มีความบริสุทธิ์มากขึ้นเพื่อให้เหมาะสมต่อการเป็นอาหารของมนุษย์ ดังนั้นการเตรียมบริเวอร์ยีสต์เพื่อเป็นอาหารของมนุษย์จะต้องผ่านขั้นตอนการกำจัดความขม (debittering process) ที่ยีสต์ดูดซึมจากน้ำส่าเบียร์ในขณะที่ขั้นตอนนี้ไม่ต้องทำในการเตรียมเป็นอาหารสัตว์ (Maltz, 1981 อ้างถึงโดยชลลดา ปรีดา, 2526)

การนำเอาบริเวอร์ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) มาผสมในอาหารเลี้ยงปลากะพง (*Morone chrysops x M. Saxatilis*) เพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีน พบว่าสามารถเสริมลงในอาหาร ร้อยละ 1% 2% และ 4% โดย ปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่เสริมยีสต์มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain) และ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed efficiency) ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม โดยภายหลังการให้อาหารเป็นเวลา 9 สัปดาห์ และศึกษาความต้านทานต่อเชื้อ *Streptococcus iniae* พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมด้วยบริเวอร์ยีสต์ทดแทนปลาป่นในระดับ 2% และ 4% ไม่มีการตาย และลดสัญญาณการเกิดโรค ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีการตาย 20% (Peng and Delbert, 2003)

2.5 การเสริมนิวคลีโอไทด์ในอาหาร

ปัจจุบันนิวคลีโอไทด์ถูกใช้ในเชิงพาณิชย์เพื่อช่วยพัฒนาการเติบโต และความต้านทานต่อเชื้อโรคของสัตว์ (Portmouth, 1993) ซึ่งการศึกษานี้ได้ใช้นิวคลีโอไทด์ในรูปของ NuPro® ที่ประกอบไปด้วยนิวคลีโอไทด์ โปรตีน วิตามิน กรดอะมิโนแอซิด ปัญหาในการใช้ยีสต์เพื่อเป็นอาหารสัตว์คือผนังเซลล์เป็นตัวลดความสามารถในการย่อย ซึ่งผนังเซลล์มีอยู่ถึง 50% ของน้ำหนักเซลล์ทั้งหมด การสกัดแยกผนังเซลล์ออกทั้งหมดทำให้โปรตีนในยีสต์สกัดมีความสามารถในการย่อยสูงขึ้น อีกทั้งยังช่วยให้สัตว์น้ำสามารถดูดซึมเข้าไปใช้ประโยชน์ได้ดียิ่งขึ้น สำหรับกรณีของNuPro® ใช้ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่สกัดผนังเซลล์ออก มีโปรตีนประมาณ 47-50% ซึ่งใกล้เคียงกับถั่วเหลืองป่น

NuPro® เป็นแหล่งอาหารที่สมบูรณ์ไปด้วยส่วนประกอบ เช่น นิวคลีโอไทด์ และกรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) ซึ่งมีผลโดยตรงในการกระตุ้น และดึงดูดการกินอาหารของสัตว์น้ำ โดยมีกรดกลูตามิก กลูตาเมต และแอคทีฟนิวคลีโอไทด์ที่ช่วยเพิ่มรสชาติ (Diehl, 2004) Takeda และ Takii (1992) พบว่าอาหารที่เสริมด้วย กรดอะมิโน และ นิวคลีโอไทด์สามารถกระตุ้นการกินรวมถึงสามารถเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโตในปลาไหลญี่ปุ่น (*Anguilla japonica*)

จากข้อมูลการทดลองของฟาร์มกุ้งเชิงพาณิชย์ในประเทศเอกวาดอร์ พบว่า NuPro® มีบทบาทในการลดความรุนแรงจากการติดเชื้อไวรัส เช่น White Spot Syndrome Virus (WSSV) โดยกุ้งในกลุ่มที่กินอาหารเสริม NuPro® 1% มีน้ำหนักเฉลี่ย และการรอดสูง และอัตราแลกเนื้อลดลง (Mendoza et al., 2001)

2.6 ระบบการเพาะเลี้ยงหอยหวาน

ปัจจุบันประเทศไทยมีการเลี้ยงหอยหวานระยะวัยรุ่นถึงขนาดตลาดเชิงพาณิชย์ โดยใช้ บ่อดิน บ่อคอนกรีต หรือบ่อผ้าใบ ระบบน้ำแบบไหลผ่านตลอด (flow-through seawater system) โดยน้ำทะเลที่ใช้เลี้ยงหอยหวานควรมีความเค็ม 28-35 พีพีที ที่อุณหภูมิ 28 - 30 องศาเซลเซียส และลูกหอยที่เหมาะสมในการนำไปเลี้ยงต่อควรมีความยาวเปลือก 0.5 - 1.0 เซนติเมตรขึ้นไปเนื่องจากเป็นระยะที่ลูกหอยมีความแข็งแรง และทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงต่อสภาพแวดล้อมได้ดี อีกทั้งมีอัตราการรอดตายค่อนข้างสูงจึงเหมาะที่จะนำไปเลี้ยงเป็นหอยเนื้อขนาดที่ตลาดต้องการได้ (บังอร ศรีมุกดา และคณะ, 2548)

จากการศึกษาของ Chaitanawisuti and Kritsanapuntu (2002) พบว่าการเลี้ยงหอยหวานระยะวัยรุ่น ขนาดเริ่มต้น 15.0 มิลลิเมตร น้ำหนักตัวเฉลี่ย 0.5 กรัม จนถึงขนาดตลาด

เป็นเวลา 6 เดือน พบว่าลูกหอยมีการเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วง 4 เดือนแรก และลูกหอยมีอัตราการเจริญช้าลงจากเดือนที่ 6 จากการศึกษาพบว่าลูกหอยมีความยาวเปลือก 35.0 มิลลิเมตร และ น้ำหนักตัว 8.6 กรัม โดยมีอัตราการเติบโต (ความยาวเปลือก) 3.53 มิลลิเมตรต่อเดือน อัตราการเติบโต (น้ำหนักตัว) 1.38 กรัมต่อเดือน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ 1.8 และอัตรารอดตายสูง 96% เมื่อเลี้ยงในระบบน้ำทะเลแบบไหลผ่านตลอด และ เมื่อเลี้ยงในระบบน้ำทะเลแบบหมุนเวียนพบว่าความยาวเปลือก 31.63 มิลลิเมตร และน้ำหนักตัว 5.98 กรัม โดยมีอัตราการเติบโต (ความยาวเปลือก) 3.27 มิลลิเมตรต่อเดือน อัตราการเติบโต (น้ำหนักตัว) 0.95 กรัมต่อเดือน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ 2.0 และอัตราการรอดตาย 95.4% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าลูกหอยมีแนวโน้มการเติบโตเมื่อเลี้ยงใน ระบบน้ำทะเลแบบหมุนเวียนใกล้เคียงกับการเลี้ยงในระบบน้ำทะเลแบบไหลผ่านตลอด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สถานที่วิจัย

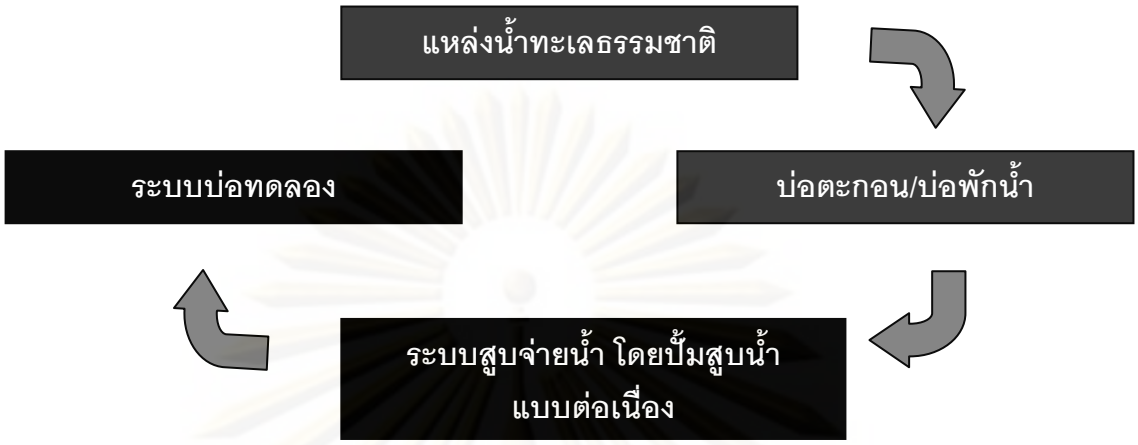
การศึกษาครั้งนี้ดำเนินการวิจัยที่หน่วยปฏิบัติการวิจัย และถ่ายทอดเทคโนโลยีการทำฟาร์มเพาะ และเลี้ยงหอยหวานเชิงพาณิชย์แบบครบวงจร สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จังหวัดเพชรบุรี และศูนย์วิจัยโรคสัตว์น้ำ (VMARC) คณะสัตวแพทย์-ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 การวางแผนการทดลอง

ออกแบบการทดลองเป็นแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) โดยศึกษาผลของการเสริมนิวคลีโอไทด์ ในสัดส่วน ร้อยละ 1 และ 2 บริเวอร์ยีสต์ ร้อยละ 1 และ 2 ตามลำดับ และอาหารสูตรควบคุมที่ไม่มีการเสริมนิวคลีโอไทด์หรือบริเวอร์ยีสต์ รวมเป็นชุดการทดลอง 5 ชุด ชุดละ 3 ซ้ำ (replicates) เพื่อหาปริมาณที่เหมาะสมของการเสริมนิวคลีโอไทด์และบริเวอร์ยีสต์ ในอาหารผสมแบบกึ่งเปียกต่อการเติบโต การรอดตาย และการเพิ่มความต้านทานการติดเชื้อวิบริโอของหอยหวาน

3.3 การเตรียมระบบเลี้ยง

ทำการเลี้ยงในกระบะพลาสติกทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด กว้าง 30 เซนติเมตร x ยาว 48 เซนติเมตร x สูง 17 เซนติเมตร ปูพื้นบ่อทดลองด้วยทรายละเอียดมีความหนาประมาณ 2 เซนติเมตร ระดับน้ำในบ่อทดลองสูง 12 เซนติเมตร แต่ละกระบะมีพื้นที่ก้นบ่อ 0.14 ตารางเมตร และบรรจุน้ำทะเล 25 ลิตร ใช้ระบบน้ำทะเลไหลผ่านตลอด (Flow-through system) เป็นเวลา 5 ชั่วโมงต่อวัน มีอัตราการไหล (flow rate) คงที่ประมาณ 32 ลิตรต่อชั่วโมง โดยใช้ระบบน้ำล้นให้อากาศแบบฟองอากาศแรงปานกลางตลอดเวลา ใช้น้ำทะเลธรรมชาติ ที่ไม่ผ่านการกรอง มีความเค็มประมาณ 30 พีพีที และทำการล้างทรายและบ่อทดลองเป็นประจำทุก 2 สัปดาห์ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 แผนผังของระบบบ่อเลี้ยงหอยหวาน

3.4 **สัตว์ทดลอง**

การศึกษานี้ใช้หอยหวานระยะวัยรุ่นที่ผลิตจากฟาร์มเอกชนอำเภอทับสะแก จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 600 ตัว โดยการใช้ลูกหอยหวานที่มาจากชุดการผลิตเดียวกัน หรือมีอายุใกล้เคียงกันมากที่สุด และคัดเลือกลูกหอยหวานที่มีขนาดใกล้เคียงกัน เพื่อมิให้มีผลกระทบต่อการเติบโตระหว่างหอยที่มีอายุและขนาดต่างกัน เมื่อเริ่มการทดลองลูกหอยหวานมีน้ำหนัก และความยาวเริ่มต้นเฉลี่ย 0.3 ± 0.1 กรัม และ 1.29 ± 0.09 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยใช้อัตราการปล่อย 214 ตัวต่อตารางเมตร หรือบ่อทดลองละ 30 ตัว โดยแบ่งลูกหอยหวานออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำลงในบ่อทดลอง (ภาพที่ 4)

3.5 **อาหารทดลอง**

อาหารที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารผสมแบบกึ่งเปียก วัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตอาหาร ได้แก่ ปลาป่น กุ้งป่น และกากถั่วเหลือง (มีระดับโปรตีน 56.4%, 40% และ 47.4% ตามลำดับ) เป็นแหล่งโปรตีน ใช้แป้งสาลีเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรท และน้ำมันปลาทูน่าเป็นแหล่งไขมัน เติมวิตามินรวม และแร่ธาตุรวมอย่างละ 2% และใช้ cellulose เป็นตัวเยื่อใย (fiber) โดยมี wheat gluten เป็นสารประสานอาหาร (binder) หลังจากนั้นจึงเสริมนิวคลีโอไทด์ ในสัดส่วนร้อยละ 1, 2 และ บริเวอร์ยีสต์ร้อยละ 1, 2 ตามลำดับ โดยใช้อาหารผสมที่ไม่เสริมนิวคลีโอไทด์และ บริเวอร์ยีสต์ (basal diet) เป็นชุดควบคุม (control) โดยสัดส่วนของวัตถุดิบของแต่ละชุดอาหารทดลอง ได้แสดงในตารางที่ 3 การผสมอาหารโดยคลุกเคล้าวัตถุดิบที่ใช้ปริมาณ

มากผสมเข้าด้วยกันก่อน แล้วจึงผสมวัตถุดิบที่ใช้ปริมาณน้อยอย่างวิตามินรวม และแร่ธาตุรวม ที่ผสมกันแล้วรวมเข้าทีหลัง ผสมน้ำในปริมาณร้อยละ 40 ของน้ำหนักอาหารเพื่อให้อาหารมีสภาพกึ่งเปียกจึงปั้นเป็นก้อนกลม ผึ่งลมเป็นระยะเวลา 1-2 วัน แล้วจึงเก็บรักษาในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ภาพที่ 4 บ่อทดลองระบบน้ำทะเลไหลผ่านตลอด (flow-through system water)

3.6 ขั้นตอนการเตรียมอาหาร

1. กำหนดสูตรอาหารโดยเสริมนิวคลีโอไทด์ ในสัดส่วน ร้อยละ 1, 2 และ บริเวอร์-ยีสต์ ร้อยละ 1, 2 และสูตรควบคุมที่ไม่เสริมบริเวอร์ยีสต์หรือนิวคลีโอไทด์ ตามลำดับ และจัดหาวัตถุดิบตามปริมาณที่กำหนดในแต่ละสูตร (ตารางที่ 1)

2. ร่อนวัตถุดิบที่เป็นส่วนประกอบอาหาร ชั่งน้ำหนักและผสมวัตถุดิบโดยผสมวัตถุดิบปริมาณมากกับวัตถุดิบปริมาณมาก วัตถุดิบปริมาณน้อยกับวัตถุดิบปริมาณน้อยอย่างวิตามินรวมและแร่ธาตุรวมผสมรวมกัน แล้วจึงนำทั้งสองส่วนผสมให้เข้ากัน โดยการคลุกประมาณ 20 นาที จนได้เนื้อเดียวกัน

3. ก่อนนำอาหารมาเลี้ยงหอย เติมน้ำลงในอาหารที่ผสมแล้วประมาณ 40% ของน้ำหนักอาหาร คลุกเคล้าให้เข้ากัน จนมีลักษณะเป็นอาหารกึ่งเปียก สามารถปั้นเป็นก้อนกลม

ตารางที่ 3 ส่วนประกอบขององค์ประกอบชนิดและปริมาณของสารอาหารที่ใช้ในการทดลอง (เปอร์เซนต์)

วัตถุดิบ	สูตรควบคุม	เสริมนิวคลีโอไทด์ (%)		เสริมบริเวอร์ยีสต์ (%)	
		1	2	1	2
ปลาป่น	41	41	41	41	41
กากถั่วเหลือง	19	18	17	18	17
กุ้งป่น	3	3	3	3	3
แป้งสาลี	17	17	17	17	17
วีทกลูเตน[1]	7	7	7	7	7
น้ำมันทูน่า	7	7	7	7	7
วิตามินรวม (+วิตามินซี)[2]	2	2	2	2	2
แร่ธาตุรวม[3]	2	2	2	2	2
เบต้า เซลลูโลส	2	2	2	2	2
นิวคลีโอไทด์ (NuPro®)[4]	0	1	2	0	0
บริเวอร์ยีสต์[5]	0	0	0	1	2
คุณค่าทางอาหาร					
โปรตีน	40.34	40.31	40.19	40.26	40.38
ไขมัน	9.24	9.18	9.25	9.22	9.27
เถ้า	13.63	13.71	13.58	13.74	13.67
เยื่อใย	4.75	4.78	4.69	4.79	4.70
ความชื้น	11.23	11.17	11.32	11.29	11.27

1 Wheat gluten ใช้เป็นตัวประสานอาหาร

2 วิตามินรวม 1 กิโลกรัมประกอบด้วย วิตามินเอ 107 IU วิตามินดี3 106 IU วิตามินอี 0.01% วิตามินเค3 0.001% วิตามินบี1 0.0005% วิตามินบี6 0.01% ดีแอลเมทไธโอนิน 0.016% เสริมวิตามินซี 2500 มิลลิกรัม

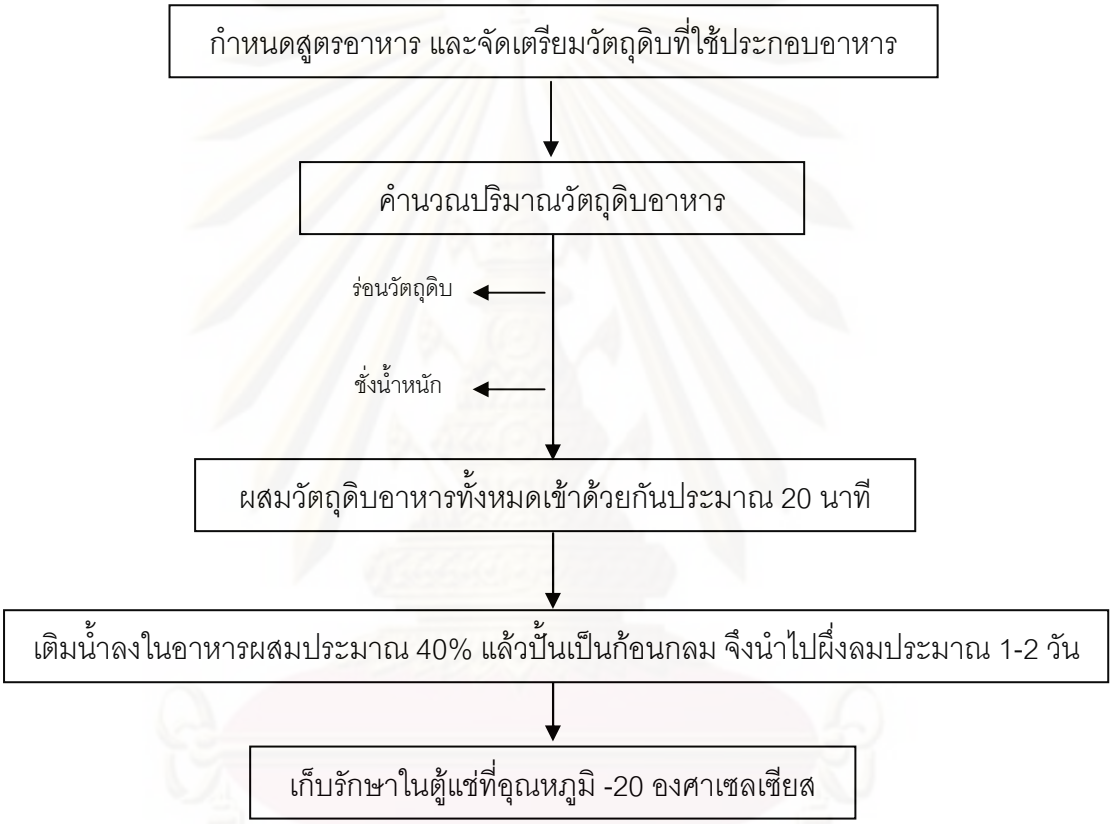
3 แร่ธาตุรวม ประกอบด้วย แคลเซียม 14.7% ฟอสฟอรัส 14.7% แมงกานีส 1.0% ทองแดง 0.36% เหล็ก 0.20% ไอโอดีน 0.10% โคบอลท์ 0.10% ซีลีเนียม 0.006%

4 NuPro ® บริษัท Alltech Biotechnology corporation

5 บริเวอร์ยีสต์ บริษัท ไทยเบฟเวอเรจ จำกัด (มหาชน)

4. นำอาหารที่ปั้นเป็นก้อนกลมออกผึ่งลมประมาณ 1-2 วัน ให้ความชื้นน้อยลงจนอาหารมีลักษณะแข็งขึ้น จึงบรรจุอาหารใส่ภาชนะเก็บรักษาไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ขั้นตอนการเตรียมอาหารสามารถสรุป ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ขั้นตอนการเตรียมอาหาร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.7 การเลี้ยงหอยหวาน

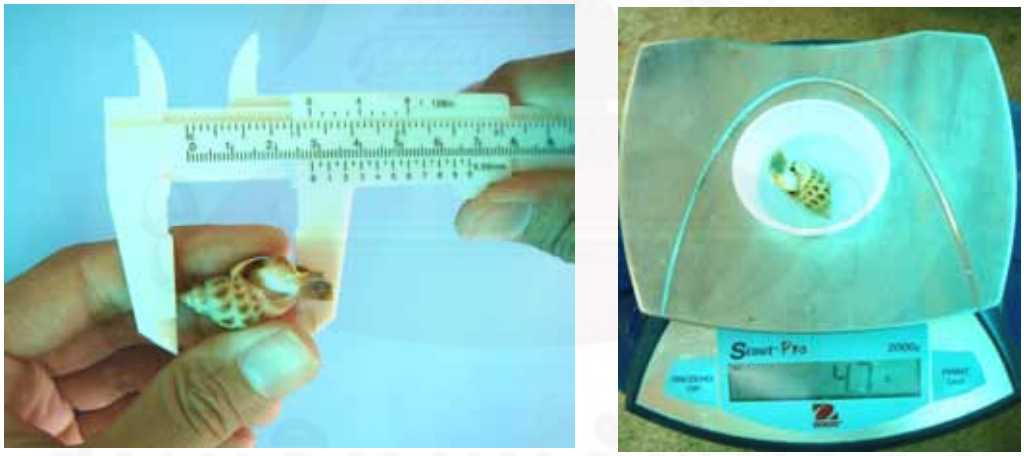
เมื่อเริ่มการทดลองงดการให้อาหารแก่หอยหวาน 2 วันก่อนการทดลอง หลังจากนั้นจึงเริ่มให้อาหารในปริมาณ 5 %ของน้ำหนักตัว โดยวางอาหารที่ปั้นเป็นเม็ดกลมลงบนเปลือกหอยเชลล์ เพื่อสะดวกต่อการเก็บอาหารที่เหลือ อีกทั้งยังป้องกันกันตกค้างของเศษอาหารบนพื้นทรายซึ่งจะส่งผลต่อคุณภาพน้ำและพื้นทรายในบ่อทดลอง (ภาพที่ 6) โดยให้อาหารเป็นประจำทุกวัน วันละ 2 ครั้ง (09.00 น. และ 13.00 น.) ทำการเก็บอาหารที่เหลือจากการกินของหอยหวาน และนำมาผึ่งลมจนมีความชื้นใกล้เคียงกับก่อนให้หอยหวานกิน หลังจากนั้นจึงนำมาชั่งหาน้ำหนักอาหาร สำหรับประเมินปริมาณอาหารที่หอยกินในแต่ละวัน โดยการศึกษานี้จะทำการปรับปริมาณอาหารที่ให้แก่หอยหวานทุกสัปดาห์ โดยคำนึงถึงปริมาณอาหารที่เหลือเป็นเกณฑ์

ทำความสะอาดบ่อทดลอง และล้างทรายเป็นประจำทุก 2 สัปดาห์สำหรับการศึกษาการเติบโตของหอยหวานกระทำโดยการนำตัวอย่างหอยหวานในแต่ละบ่อทดลองมาชั่งน้ำหนัก และวัดความยาวเปลือกของหอยทุกตัวที่ยังมีชีวิตอยู่ เป็นประจำทุก 30 วัน โดยเก็บข้อมูลการตายของหอยหวานเป็นประจำทุกวัน (ภาพที่ 7)

ทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำทะเลในบ่อพักน้ำเป็นประจำทุกสัปดาห์ โดยพารามิเตอร์ที่ศึกษาประกอบด้วย อุณหภูมิน้ำทะเล ความเค็ม ความเป็นกรดด่าง อัลคาลินิตี้ ปริมาณ-ออกซิเจนในน้ำ ไนไตรท์ และ แอมโมเนียม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 6 การเลี้ยงหอยหวานด้วยอาหารผสมแบบกึ่งเปียก



ภาพที่ 7 การวัดความยาวเปลือก และชั่งน้ำหนักหอยเป็นรายตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.8 การทดสอบความสามารถในการต้านทานโรค (Challenge test)

3.8.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ *Vibrio alginolyticus* ที่แยกได้จากหอยหวานโดยศูนย์วิจัยโรคสัตว์น้ำ (VMARC) คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลองนี้ คือ Thiosulfate Citrate Bile Salts Media (TCBS) ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะสำหรับเชื้อวิบริโอ และ Tryptone Soya Agar (TSA) ที่ผสมสารละลาย 1%NaCl

3.8.2 กราฟมาตรฐานของ *V. alginolyticus* (Standard curve)

นำเชื้อ Vib*rio alginolyticus* ที่เก็บรักษาไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการกระตุ้นเชื้อใน 1%NaCl TSA และยืนยันเชื้อ *Vibrio* sp. ใน TCBS โดยบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงปรับความเข้มข้นของเชื้อโดยการเขี่ยโคโลนีของ *Vibrio alginolyticus* ลงในหลอดทดลองที่บรรจุ 1%NaCl เขย่าด้วยเครื่อง Vortex เพื่อนำมาทำ 10-fold dilution โดยบันทึกค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของสาระละลายแต่ละตัวที่เจือจาง 10 เท่า ด้วยเครื่อง spectrometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร แล้วนำสารละลายแต่ละตัวที่เจือจางแล้วปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ไปกระจายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงทำการนับจำนวนโคโลนีที่ปรากฏบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเลือกที่มีจำนวนอยู่ระหว่าง 30 - 300 โคโลนี แล้วนำมาคำนวณหาจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียโดยใช้หน่วย CFU (colony forming unit) ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มิลลิลิตร เพื่อนำค่าการดูดกลืนแสงและ CFU mL^{-1} มาพล็อตกราฟมาตรฐาน (standard curve) (ภาคผนวก ข, ภาพที่ 15)

3.8.3 ปริมาณเชื้อ *V. alginolyticus* ที่ทำให้หอยหวานตาย 50% ภายใน 24 ชั่วโมง

งดการให้อาหารหอยหวาน 24 ชั่วโมงก่อนทำการทดลอง โดยเตรียมกระตุ้นเชื้อ *Vibrio alginolyticus* 1%NaCl TSA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วปรับความเข้มข้นด้วย 1%NaCl เป็น 10^3, 10^7, 10^{10}, 10^{13} CFU mL^{-1} เทียบจากกราฟมาตรฐาน (Standard curve) นำหอยหวานจำนวน 58 ตัว แยกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 3 ซ้ำ ฉีดเชื้อเข้ากล้ามเนื้อปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร โดยมีกลุ่มควบคุมเป็นกลุ่มที่ถูกฉีดด้วย 1%NaCl ด้วยเข็มฉีดยาขนาดเล็ก (ความจุ 1 มล., เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.45 มม., 13 มม., REX®) ทำการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (Intramuscular injection) บันทึกการตายของหอยหวานเมื่อครบ 24 ชั่วโมง เพื่อนำมาคำนวณค่า LD_{50} ของ *V. alginolyticus* ดังสมการที่ 1 (Pattanaargson, 1996)

The Median Lethal Dose, LD_{50}

$$LD_{50} = \frac{\text{. ln CB 50\% + (50 – MB 50\%) x (ln CA 50\% - ln CB 50\%)}}{\text{(MA 50\% - MB 50\%)}} \quad \text{.....1}$$

ln CA 50% = ln (ความเข้มข้นที่หอยหวานตายมากกว่า 50%)

ln CB 50% = ln (ความเข้มข้นที่หอยหวานตายน้อยกว่า 50%)

MA 50 % = ตายมากกว่า 50%

MB 50 % = ตายน้อยกว่า 50%

3.8.4 ความสามารถในการต้านทานเชื้อวิบริโอของหอยหวาน

นำหอยหวาน *B. areolata* ที่ได้รับอาหารเสริมบริเวอร์ยีสต์ 0, 1, 2 เปอร์เซนต์ และนิวคลีโอไทด์ 0, 1, 2 เปอร์เซนต์ แยกออกเป็นกลุ่มละ 5 ซ้ำ ในน้ำทะเลความเค็มประมาณ 30 พีพีที โดยงดการให้อาหารหอยหวานก่อนการหา LD_{50} ของ *V. alginolyticus* โดยการฉีดเข้าบริเวณกล้ามเนื้อเท้าของหอยหวาน ขณะที่ฉีด 1%NaClในกลุ่มควบคุม แล้วทำการเก็บข้อมูลการตายของหอยหวานภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อนำมาคำนวณหาประสิทธิภาพการต้านทานต่อโรค (relative percent survival) เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของอาหารที่เสริมบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน และ 4 เดือน ดังสมการที่ 2 (Chansue et al., 2007)

ประสิทธิภาพการต้านทานต่อโรค (Relative percent survival, RPS)

$$RPS = \frac{\text{(nontreat lethal – treat lethal) x 100}}{\text{nontreat lethal}} \quad \text{.....2}$$

3.9 การประเมินผล และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการศึกษานี้ให้อาหารแก่หอยหวาน 2 ครั้งต่อวัน แบ่งเป็นช่วงเช้า (9.00-11.00 น.) และช่วงบ่าย (13.00-15.00 น.) แบบให้กินจนอิ่ม (apparent satiation feeding) โดยสังเกตจากการที่หอยกินอาหารอิ่มแล้วจะฝังตัวกลับลงใต้ทราย ซึ่งจะให้อาหารแก่หอยหวานในปริมาณมากเกินพอและกินจนกระทั่งหยุดกินอาหาร จึงเก็บอาหารที่เหลือออกแล้วนำไปผึ่งแดดให้เหลืออาหาร

ในลักษณะที่มีความชื้นใกล้เคียงกับอาหารก่อนแช่น้ำ เพื่อนำไปใช้คำนวณหาปริมาณอาหารที่หอยกินในแต่ละวัน (ปริมาณอาหารที่กิน = น้ำหนักอาหารก่อนให้ – น้ำหนักอาหารที่เหลือ)

การศึกษานี้ทำการเลี้ยงหอยหวานเป็นระยะเวลา 4 เดือนโดยทำการประเมินผลการเลี้ยงจากการเติบโต โดยใช้ค่าความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้น (Shell length increment) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Body weight gain) การเติบโตโดยน้ำหนัก (Weight Gain Rate, WGR) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ หรืออัตราการแลกเนื้อ (food conversion ratio, FCR) จากการคำนวณดังนี้ (นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์, 2545)

ประเมินผลการเติบโต

ความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้น (Shell length increment)

= ความยาวเปลือกเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – ความยาวเปลือกเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Body weight gain)

= น้ำหนักหอยเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง

% การเติบโตโดยน้ำหนัก (Weight Gain Rate, WGR)

$$= \frac{\text{(น้ำหนักหอยเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง)}}{\text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักรวมของอาหารที่ใช้เลี้ยงหอยตลอดการทดลอง}}{\text{(น้ำหนักหอยเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง)}}$$

การตรวจสอบคุณภาพน้ำบ่อทดลอง

ตรวจวัดคุณภาพน้ำในกระบะเลี้ยงขณะทำการทดลองเลี้ยงทุก 2 สัปดาห์ ดังนี้

- ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ อุณหภูมิน้ำทะเล โดยใช้มัลติโพรบในการวัด
- ปริมาณแอมโมเนีย ไนไตรท์ ความเป็นกรดด่าง (pH) อัลคาไลน์ โดยใช้ชุดตรวจสอบคุณภาพน้ำ (test kit) AQUA-VBC ของคณะสัตวแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ดังภาพที่ 8

ภาพที่ 8 ชุดตรวจสอบคุณภาพน้ำ

วิเคราะห์คุณภาพอาหาร

วิเคราะห์คุณภาพอาหาร ประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น โดยวิธี proximate analysis (AOAC,1995) (ภาคผนวก ก.)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์และประเมินผลการทดลองโดยใช้ข้อมูลความยาวเปลือก น้ำหนัก และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และการรอดของหอยหวานแต่ละชุดการทดลองมาวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบหาปริมาณการเสริมบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ที่เหมาะสมที่สุดต่อการเติบโต การรอดในการเลี้ยงหอยหวาน ด้วยวิธีวิเคราะห์ Analysis of Variance และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิเคราะห์

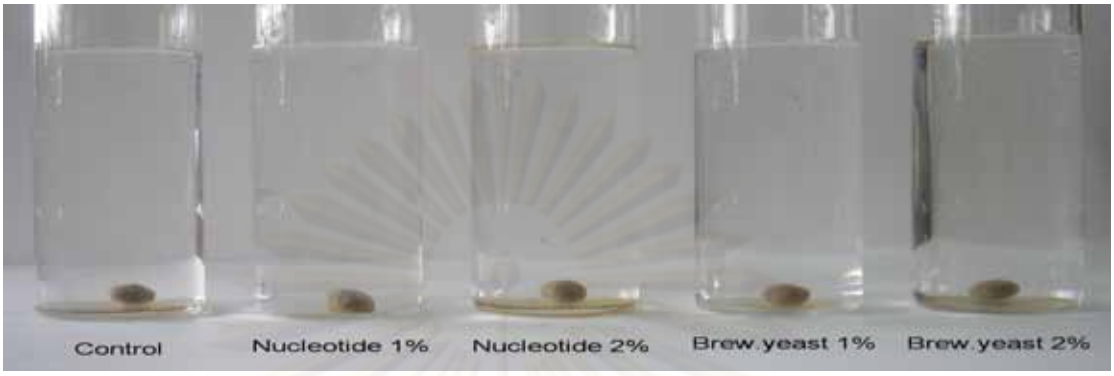
การทดสอบความคงสภาพของอาหาร

จากการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของอาหารทดลอง 5 สูตร โดยวิธี proximate analysis (ตารางที่ 4) พบว่าระดับโปรตีน และไขมันมีค่าใกล้เคียงกับสูตรอาหารที่กำหนด โดยอาหารทดลองระดับโปรตีนร้อยละ 40 มีค่าโปรตีนร้อยละ 40.19 - 40.38 และระดับไขมันร้อยละ 10 มีค่าไขมันร้อยละ 9.18 - 9.27 มีค่าเถ้า เยื่อใย และความชื้น ร้อยละ 13.58 – 13.74, 4.69 - 4.79 และ 11.17 – 11.32 ตามลำดับ (ภาคผนวก ค.)

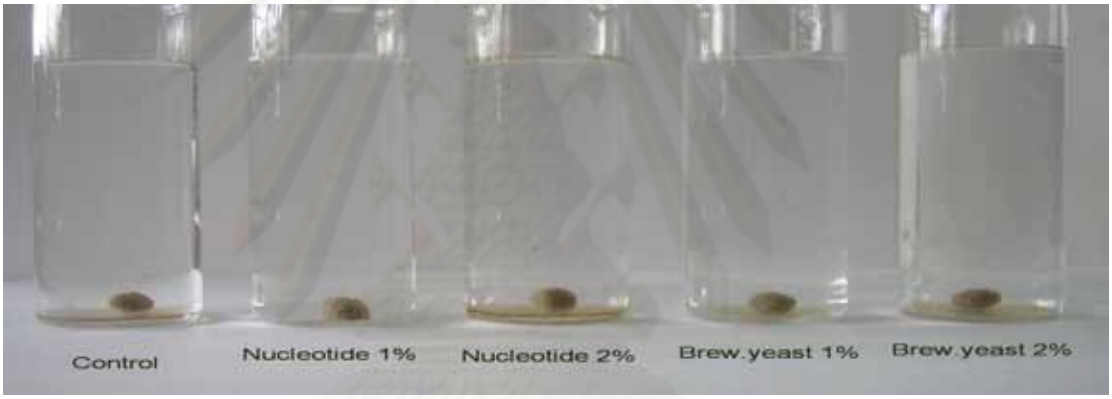
เมื่อนำอาหารทดลองที่ปั้นแล้วไปทดสอบความคงทนของอาหาร พบว่าอาหารทุกชุดการทดลองเมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง และ 3 ชั่วโมง มีค่าการคงสภาพอยู่ในช่วงร้อยละ 88.72 – 95.69, 61.38 – 67.78 และ 53.54 – 58.63 ตามลำดับ ดังภาพที่ 9 -11 ซึ่งเมื่อทดสอบการยอมรับของหอยหวาน พบว่าหอยหวานกินอาหารทดลองทุกสูตร ทั้งกลุ่มเสริมบริเวอร์-ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ เนื่องจากอาหารทดลองมีลักษณะที่สอดคล้องกับพฤติกรรมการกินของหอยหวานคือมีลักษณะกึ่งเปียก ไม่ยุ่ยง่าย และจมน้ำเนื่องจากหอยหวานมีลักษณะการกินแบบกลุ่มก้อน โดยใช้งวงในการกินอาหารบริเวณพื้นบ่อ

ตารางที่ 4 คุณภาพและคุณสมบัติของอาหารทดลอง 5 สูตร

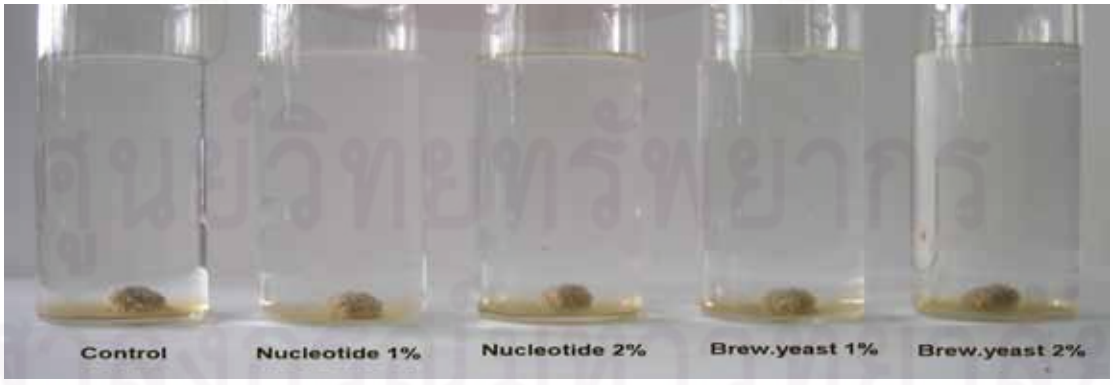
คุณค่าทางอาหาร	สูตรอาหาร				
	สูตรควบคุม	เสริมนิวคลีโอไทด์ (%)		เสริมบริเวอร์ยีสต์ (%)	
		1	2	1	2
โปรตีน	40.34	40.31	40.19	40.26	40.38
ไขมัน	9.24	9.18	9.25	9.22	9.27
เถ้า	13.63	13.71	13.58	13.74	13.67
เยื่อใย	4.75	4.78	4.69	4.79	4.70
ความชื้น	11.23	11.17	11.32	11.29	11.27



ภาพที่ 9 การเปรียบเทียบการคงสภาพของอาหารที่ระยะเวลา 1 ชั่วโมง



ภาพที่ 10 การเปรียบเทียบการคงสภาพของอาหารที่ระยะเวลา 2 ชั่วโมง



ภาพที่ 11 การเปรียบเทียบการคงสภาพของอาหารที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง

ผลของการเสริมบริเวอร์ยีสต์และนิวคลีโอไทด์ในอาหารผสมต่อการเติบโตของหอยหวาน

การเติบโตโดยความยาวเปลือกของหอยหวาน

จากการศึกษาการเติบโตทางความยาวเปลือกของหอยหวาน โดยเสริม บริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ในอาหารปริมาณต่างกันเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ชุดการทดลองที่เสริมบริเวอร์ยีสต์ 1% มีการเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ย ค่าการเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือก อัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือก และร้อยละของความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้นของหอยหวานสูงสุด คือ 2.68 ± 0.25 เซนติเมตร 1.39 ± 0.06 เซนติเมตร 0.35 ± 0.02 เซนติเมตรต่อเดือน และ ร้อยละ 108.58 ± 4.89 แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติทุกชุดการทดลอง (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 5 – 7 และภาพที่ 12 (ตารางที่ 30-35, ภาคผนวก จ)

ตารางที่ 5 ความยาวเปลือกเฉลี่ย (เซนติเมตร) ของหอยหวานในแต่ละสูตรอาหารเป็นระยะเวลา 4 เดือน

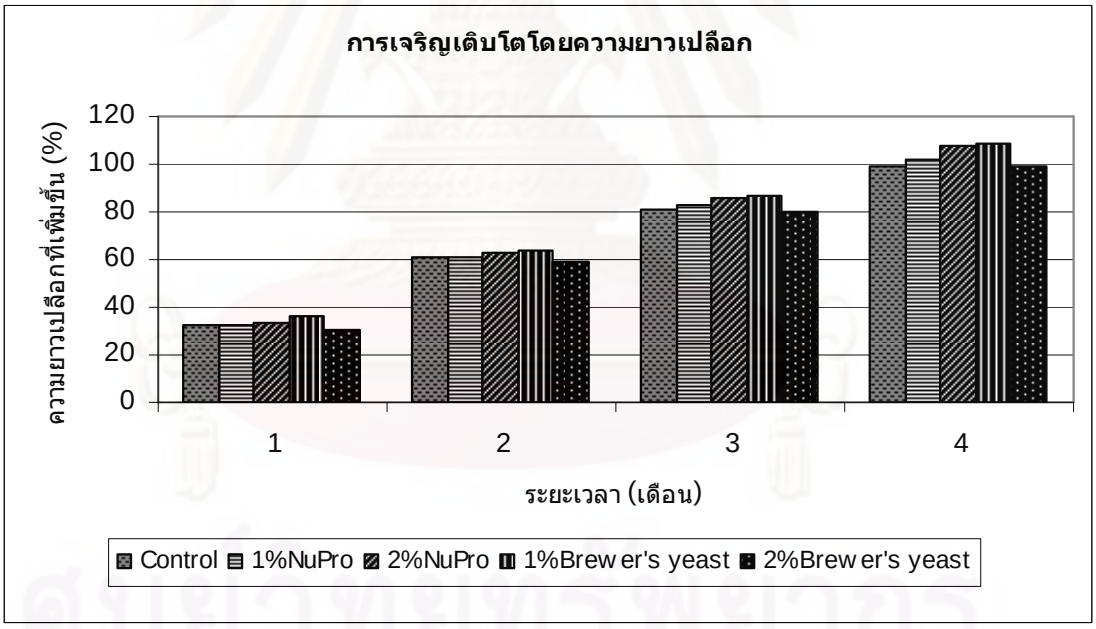
Diet formula	Month				
	0	1	2	3	4
Control	1.28[a] ± 0.09	1.70[a] ± 0.13	2.06[a] ± 0.19	2.31[a] ± 0.25	2.55[a] ± 0.24
NuPro® 1%	1.29[a] ± 0.09	1.71[a] ± 0.16	2.07[a] ± 0.22	2.35[a] ± 0.25	2.60[a] ± 0.29
NuPro® 2%	1.28[a] ± 0.10	1.72[a] ± 0.14	2.09[a] ± 0.20	2.38[a] ± 0.26	2.66[a] ± 0.30
Brewer's yeast 1%	1.28[a] ± 0.09	1.75[a] ± 0.13	2.13[a] ± 0.19	2.40[a] ± 0.23	2.68[a] ± 0.25
Brewer's yeast 2%	1.31[a] ± 0.10	1.72[a] ± 0.15	2.08[a] ± 0.21	2.36[a] ± 0.24	2.60[a] ± 0.28

ตารางที่ 6 อัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ย (เซนติเมตร) การเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือกและอัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือกของหอยหวานแต่ละชุดการทดลอง

Diet formula	Shell length(cm)			Growth in shell length
	Initial	Final	Increment	
Control	1.28[a] ± 0.09	2.55[a] ± 0.24	1.27[a] ± 0.08	0.32[a] ± 0.02
NuPro® 1%	1.29[a] ± 0.09	2.60[a] ± 0.29	1.31[a] ± 0.08	0.33[a] ± 0.02
NuPro® 2%	1.28[a] ± 0.10	2.66[a] ± 0.30	1.38[a] ± 0.12	0.34[a] ± 0.03
Brewer's yeast 1%	1.28[a] ± 0.09	2.68[a] ± 0.25	1.39[a] ± 0.06	0.35[a] ± 0.02
Brewer's yeast 2%	1.31[a] ± 0.10	2.60[a] ± 0.28	1.29[a] ± 0.10	0.32[a] ± 0.03

ตารางที่ 7 ร้อยละของความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้นของหอยหวานในแต่ละสูตรอาหารเป็นระยะเวลา 4 เดือน

Diet formula	Month			
	1	2	3	4
Control	32.69[a] ± 3.46	60.47[a] ± 8.20	80.44[a] ± 10.21	98.29[a] ± 7.78
NuPro® 1%	32.81[a] ± 4.13	61.20[a] ± 5.49	83.33[a] ± 5.32	102.34[a] ± 6.20
NuPro® 2%	33.77[a] ± 0.15	63.12[a] ± 1.25	85.51[a] ± 6.91	107.61[a] ±10.91
Brewer's yeast 1%	36.37[a] ± 2.34	65.46[a] ± 3.37	86.76[a] ± 3.51	108.58[a] ± 4.89
Brewer's yeast 2%	30.86[a] ± 4.28	59.46[a] ± 8.40	80.09[a] ± 9.50	98.94[a] ± 10.65



ภาพที่ 12 ร้อยละของความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้นของหอยหวานในแต่ละชุดการทดลอง

การเติบโตโดยน้ำหนักของหอยหวาน

จากการศึกษาการเติบโตทางน้ำหนักของหอยหวาน โดยเสริมบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ในอาหารปริมาณต่างกันเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ชุดการทดลองที่เสริมบริเวอร์ยีสต์ 1% มีการเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ย ค่าการเพิ่มขึ้นโดยน้ำหนัก อัตราการเติบโตโดยน้ำหนัก และร้อยละของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของหอยหวานไม่ต่างกับหอยหวานที่ได้รับอาหารเสริมนิวคลีโอไทด์ 2% และบริเวอร์ยีสต์ 2% คือ 4.1 ± 1.0 กรัม 3.8 ± 0.2 กรัม 0.9 ± 0.1 กรัมต่อเดือน และ ร้อยละ 1266.7 ± 66.7 ซึ่งเห็นได้ชัดว่าหอยหวานที่ได้รับอาหารเสริมบริเวอร์ยีสต์ 1% มีการเติบโตด้านน้ำหนักเฉลี่ยในเดือนที่ 4 และมีอัตราการเติบโตต่างกับสูตร control อย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 8 – 10 และภาพที่ 13 (ตารางที่ 36-41, ภาคผนวก จ)

ตารางที่ 8 การเติบโตด้านน้ำหนักเฉลี่ยของหอยหวานในแต่ละสูตรอาหารเป็น ระยะเวลา 4 เดือน

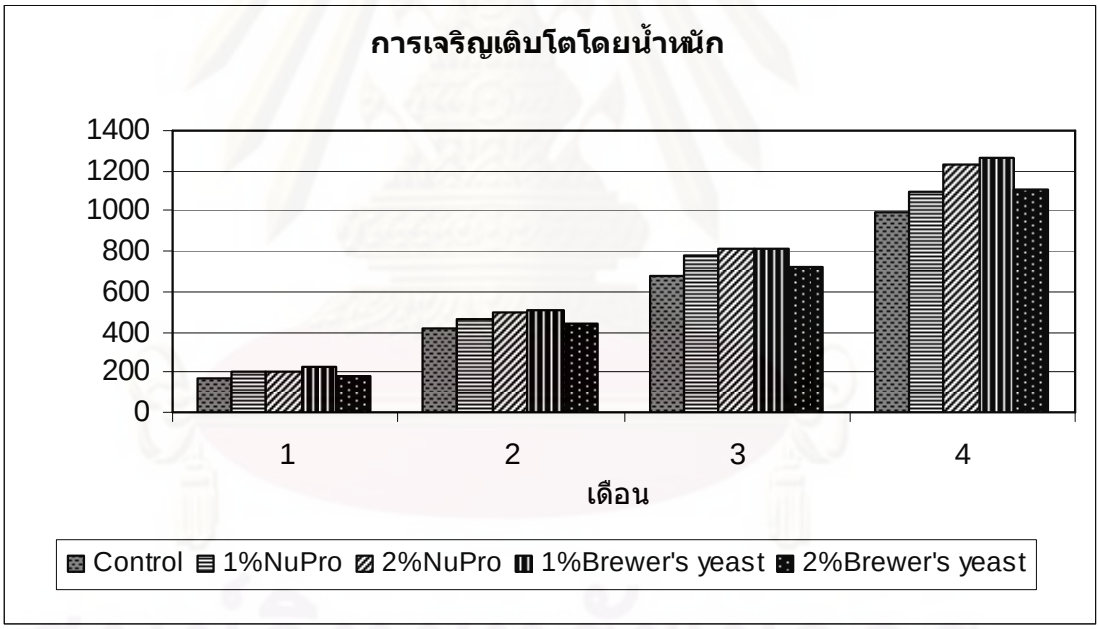
Diet Formula	Month				
	0	1	2	3	4
Control	0.3[a] ± 0.1	0.9[a] ± 0.2	1.7[a] ± 0.4	2.5[a] ± 0.6	3.6[a] ± 0.9
NuPro® 1%	0.3[a] ± 0.1	0.9[a] ± 0.2	1.7[a] ± 0.4	2.6[a] ± 0.7	3.6[a] ± 0.9
NuPro® 2%	0.3[a] ± 0.1	0.9[a] ± 0.2	1.8[a] ± 0.4	2.7[a] ± 0.7	4.0[a] ± 1.0
Brewer's yeast 1%	0.3[a] ± 0.1	1.0[a] ± 0.2	1.8[a] ± 0.4	2.7[a] ± 0.6	4.1[a] ± 1.0
Brewer's yeast 2%	0.3[a] ± 0.1	0.9[a] ± 0.2	1.8[a] ± 0.5	2.7[a] ± 0.7	3.9[a] ± 1.0

ตารางที่ 9 อัตราการเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ย การเพิ่มขึ้นโดยน้ำหนักและอัตราการเติบโตโดยน้ำหนักของหอยหวานแต่ละชุดการทดลอง

Diet formula	Body weight (g.)			Growth in body weight
	Initial	Final	Increment	
Control	0.3[a] ± 0.1	3.6[a] ± 0.9	3.2[a] ± 0.3	0.8[a] ± 0.1
NuPro® 1%	0.3[a] ± 0.1	3.6[a] ± 0.9	3.3[a] ± 0.1	0.8[a] ± 0.0
NuPro® 2%	0.3[a] ± 0.1	4.0[a] ± 1.0	3.7[a] ± 0.4	0.9[a] ± 0.1
Brewer's yeast 1%	0.3[a] ± 0.1	4.1[a] ± 1.0	3.8[a] ± 0.2	0.9[a] ± 0.1
Brewer's yeast 2%	0.3[a] ± 0.1	3.9[a] ± 1.0	3.6[a] ± 0.3	0.9[a] ± 0.1

ตารางที่ 10 ร้อยละของน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นของหอยหวานในแต่ละสูตรอาหารเป็นระยะเวลา 4 เดือน

Diet formula	Month			
	1	2	3	4
Control	175.0 [a] ± 43.3	413.9 [a] ± 121.4	680.6 [a] ± 178.8	997.22 [a] ± 238.1
NuPro® 1%	200.0 [a] ± 33.3	466.7 [a] ± 33.3	777.8 [a] ± 38.5	1100.0 [a] ± 33.3
NuPro® 2%	200.0 [a] ± 0.0	500.0 [a] ± 33.3	811.1 [a] ± 50.9	1233.3 [a] ± 120.2
Brewer's yeast 1%	222.2 [a] ± 19.2	511.1 [a] ± 38.5	811.1 [a] ± 50.9	1266.7 [a] ± 66.7
Brewer's yeast 2%	186.1 [a] ± 55.5	444.4 [a] ± 126.2	719.4 [a] ± 169.2	1108.3 [a] ± 250.4



ภาพที่ 13 ร้อยละของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของหอยหวานในแต่ละชุดการทดลอง

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ

จากการศึกษาอัตราแลกเนื้อ (Feed Conversion Ratio) ของหอยหวาน โดยเสริมบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ในอาหารปริมาณต่างกันเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าอัตราแลกเนื้อของหอยหวานมีความแตกต่างทางสถิติ 2 กลุ่ม ($P \leq 0.05$) โดยหอยหวานที่ได้รับอาหารผสมเสริมนิวคลีโอไทด์ 2% บริเวอร์ยีสต์ 1% และบริเวอร์ยีสต์ 2% มีอัตราแลกเนื้อต่ำที่สุด เท่ากับ 1.05, 1.05 และ 1.06 ตามลำดับ ซึ่งมีอัตราแลกเนื้อต่ำกว่าหอยหวานที่ได้รับอาหารผสมเสริมนิวคลีโอไทด์ 1% และอาหารสูตรควบคุม โดยมีอัตราแลกเนื้อเท่ากับ 1.22 ดังแสดงในตารางที่ 11 (ตารางที่ 42-44 ภาคผนวก จ)

ตารางที่ 11 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของหอยหวานในแต่ละสูตรอาหารเป็นระยะเวลา 4 เดือน

Diet formula	Feed intake	Weight gain	Feed Conversion Ratio
Control	116.8	96.17	$1.22^{a} \pm 0.08$
NuPro® 1%	118.9	97.97	$1.22^{a} \pm 0.07$
NuPro® 2%	115.4	110.53	$1.05^{b} \pm 0.06$
Brewer's yeast 1%	117.2	111.57	$1.05^{b} \pm 0.06$
Brewer's yeast 2%	111.2	105.1	$1.06^{b} \pm 0.07$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อัตราการรอดของหอยหวาน (เปอร์เซนต์)

จากการศึกษาอัตราการรอดสุดท้าย (Final survival) ของหอยหวาน โดยเสริมบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ในอาหารปริมาณต่างกันเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าอัตราการรอดตายสุดท้ายของหอยหวานไม่มีความแตกต่างทางสถิติทุกชุดการทดลอง โดยทุกชุดการทดลองมีอัตราการรอดตายสุดท้ายเกิน 97% (97.78%-100%) ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 อัตราการรอดของหอยหวาน (เปอร์เซนต์) ในแต่ละสูตรอาหารเป็นระยะเวลา 4 เดือน

Diet formula	Month				
	0	1	2	3	4
Control	100	100	100	98.89	98.89
NuPro® 1%	100	100	100	98.89	98.89
NuPro® 2%	100	100	100	100	100
Brewer's yeast 1%	100	100	98.89	97.78	97.78
Brewer's yeast 2%	100	100	100	97.78	97.78

ประสิทธิภาพการต้านทานต่อโรค (Relative Percent Survival, RPS)

จากการศึกษาประสิทธิภาพการต้านทานต่อโรควิบริโอซีสของหอยหวานจากการเหนี่ยวนำด้วยเชื้อ *V. alginolyticus* จำนวน 7.192 x 10^9 CFU/ml จนครบ 24 ชั่วโมง (อาการติดเชื้อจะแสดงออกโดยท่อ probosis มีลักษณะบวมเป็นสีแดง) พบว่าเมื่อเลี้ยงหอยหวานด้วยอาหารเสริมบริเวอร์ยีสต์ หรือนิวคลีโอไทด์เป็นเวลา 1 เดือน พบความแตกต่างทางสถิติของอัตรารอด 2 กลุ่ม ($P< 0.05$) คือ หอยหวานที่ได้รับอาหารเสริมบริเวอร์ยีสต์ 1% มีอัตราการรอดสูงที่สุด คือ 90.00 ± 22.36 เปอร์เซนต์ ซึ่งสูงกว่าหอยหวานที่ได้รับอาหารเสริมนิวคลีโอไทด์ 1%, บริเวอร์ยีสต์ 2%, นิวคลีโอไทด์ 2% และสูตรควบคุม มีอัตรารอด 65.00 ± 28.50, 60.00 ± 22.36, 50.00 ± 17.68 และ 35.00 ± 13.69 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (เดือนที่ 4) พบความแตกต่างทางสถิติของอัตรารอด 2 กลุ่ม ($P< 0.05$) คือ หอยหวานที่ได้รับอาหารเสริมบริเวอร์ยีสต์ 1%, นิวคลีโอไทด์ 1% และ บริเวอร์ยีสต์ 2% มีอัตราการรอดสูงที่สุด คือ 80.00 ± 20.92, 70.00 ± 20.92, 65.00 ± 28.50 เปอร์เซนต์ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าหอยหวานที่ได้รับอาหารเสริมนิวคลีโอไทด์ 2% และสูตรควบคุม มีอัตรารอด 60.00 ± 28.50 และ 30.00 ± 20.92 เปอร์เซนต์ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 13 - 14 และภาพที่ 14 ดังแสดงในภาคผนวก ง.

พบว่าการทดสอบประสิทธิภาพความต้านทานต่อโรควิบริโอซีสของหอยหวานในชุดการทดลองที่ไม่เสริมบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ภายหลังจากการเหนี่ยวนำด้วยเชื้อ *V. alginolyticus* จำนวน 7.192 x 10^9 CFU/ml จนครบ 24 ชั่วโมง มีอัตราการรอดต่ำกว่าชุดการทดลองที่เสริมบริเวอร์ยีสต์และนิวคลีโอไทด์ โดยค่า RPS (Relative Percent Survival) ในเดือนที่ 1 ของอาหารผสมเสริมบริเวอร์ยีสต์ 1%, เสริมนิวคลีโอไทด์ 1% เสริมบริเวอร์ยีสต์ 2%, เสริมนิวคลีโอไทด์ 2% และสูตรควบคุมเท่ากับ 84.62%, 46.15%, 38.46%, 23.08% และ 0% ตามลำดับ และเดือนที่ 4 (สิ้นสุดการทดลอง) มีค่า RPS เท่ากับ 76.92%, 53.85%, 46.15%, 38.46% และ 0% ตามลำดับ โดยชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมเสริมบริเวอร์ยีสต์ 1% ให้ค่า RPS สูงที่สุด และชุดการทดลองที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีค่า RPS เท่ากับ 0 ดังตารางที่ 13 - 14 (ตารางที่ 23-28, ภาคผนวก ง)

ตารางที่ 13 ประสิทธิภาพการต้านทานต่อโรค (Relative Percent Survival, RPS) และอัตรารอดของหอยหวานในแต่ละสูตรอาหารในเดือนที่ 1

Formula	Survival rate (%)	RPS (1)
Control	35.00^{b} ± 13.69	0
NuPro® 1%	65.00^{ab} ± 28.50	46.15
NuPro® 2%	50.00^{b} ± 17.68	23.08
Brewer's yeast 1%	90.00^{a} ± 22.36	84.62
Brewer's yeast 2%	60.00^{b} ± 22.36	38.46

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 ประสิทธิภาพการต้านทานต่อโรค (Relative Percent Survival, RPS) และอัตรารอดของหอยหวานในแต่ละสูตรอาหารในเดือนที่ 4

Formula	Survival rate (%)	RPS (4)
Control	$30.00^{b} \pm 20.92$	0
NuPro® 1%	$70.00^{a} \pm 20.92$	53.85
NuPro® 2%	$60.00^{ab} \pm 28.50$	38.46
Brewer's yeast 1%	$80.00^{a} \pm 20.92$	76.92
Brewer's yeast 2%	$65.00^{a} \pm 28.50$	46.15

ภาพที่ 14 หอยหวานภายหลังการเหนี่ยวนำด้วยเชื้อ *V. alginolyticus*

คุณภาพน้ำทะเล

คุณภาพน้ำของบ่อทดลองที่เก็บระหว่างการเลี้ยงในระบบน้ำแบบไหลผ่านตลอดระยะเวลา 4 เดือน ผลการศึกษาพบว่าคุณภาพน้ำมีค่าอยู่ในช่วงใกล้เคียงกันในแต่ละสูตรอาหารและซ้ำการทดลอง ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการเติบโต และการดำรงชีวิตอยู่ได้อย่างปกติของหอยหวาน จากการเก็บข้อมูลคุณภาพน้ำตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง พบว่ามีค่าเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก เนื่องจากบ่อทดลองเป็นระบบน้ำแบบไหลผ่าน-ตลอด อีกทั้งมีการให้ออกซิเจนที่เพียงพอ ค่าแอมโมเนีย (NH_4-N) และไนไตรท์ (NO_2-N) อยู่ในเกณฑ์ปกติ และไม่มีผลต่อการเติบโตของหอยหวาน ดังแสดงในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 คุณภาพน้ำทะเลในการเลี้ยงหอยหวานในระบบน้ำไหลผ่านตลอด

Parameters	Months			
	1	2	3	4
Water temperature (°C)	24-25	24	26-27	26-27
Salinity (ppt)	30	29	30	29
Dissolve Oxygen (mg/l)	6.5-7.0	6.8-7.0	6.5-6.9	6.9-7.0
Ammonia (NH_4-N, mg/l)	0-0.25	0-0.25	0-0.25	0-0.25
Alkalinity (mg/l)	120-130	100-110	110-120	110-120
Nitrite (NO_2-N, mg/l)	0-0.05	0.05-0.1	0.1-0.25	0.1-0.25
pH	7.3	7.3	7.6	7.6

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

ผลของการเสริมบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ต่อการเติบโตของหอยหวาน

จากการศึกษาผลของบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์โดยเสริมลงในอาหารหอยหวานที่เหมาะสมในระยะเวลา 4 เดือน จากความยาวเปลือกเริ่มต้น 1.29 ± 0.09 เซนติเมตร น้ำหนักตัวเริ่มต้น 0.3 ± 0.1 กรัม และความยาวเปลือกสุดท้าย 2.62 ± 0.05 เซนติเมตร น้ำหนักสุดท้าย 63.8 ± 0.2 กรัม เมื่อพิจารณาการเติบโตในเดือนที่ 4 (สิ้นสุดของการทดลอง) พบว่าแต่ละชุดการทดลองมีการเติบโตทางความยาวเปลือกเฉลี่ย การเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือก และอัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือกใกล้เคียงกัน และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P>0.05$) หอยหวานที่ได้รับอาหารเสริมบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ต่างมีค่าร้อยละของน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นสูงกว่าชุดการทดลองที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม โดยชุดการทดลองที่เสริมบริเวอร์ยีสต์ 1% มีค่าสูงที่สุด คือร้อยละ 1266.7 ± 66.7 สอดคล้องกับ Peng and Delbert (2005) ซึ่งเสริมบริเวอร์ยีสต์ปริมาณ 1% และ 2% ในอาหารปลา hybrid striped bass เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าภายใน 4 สัปดาห์ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมบริเวอร์ยีสต์ 2% มีร้อยละของน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม เช่นเดียวกับ Peng and Delbert (2003) ที่เสริมบริเวอร์ยีสต์ปริมาณ 1% และ 2% ของอาหารปลา hybrid striped bass เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ แล้วส่งผลให้ร้อยละของน้ำหนักตัวสูงกว่าอาหารสูตรควบคุมถึง 20% และพบว่าชุดการทดลองที่เสริมบริเวอร์ยีสต์ในปริมาณ 1% ให้ค่าร้อยละของน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นสูงกว่าชุดการทดลองที่เสริมบริเวอร์ยีสต์ 2% ในระยะเวลา 8 สัปดาห์ Li, Neill & Gatlin III (2007) ศึกษาการเจริญเติบโตของปลาจวด *Sciaenops ocellatus* โดยเสริมนิวคลีโอไทด์ลงในอาหารปริมาณ 0.03, 0.1 และ 0.3% พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมนิวคลีโอไทด์ทุกระดับมีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมตั้งแต่สัปดาห์แรก

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Ratio)

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ เป็นค่าของน้ำหนักของสัตว์ที่เพิ่มขึ้นต่อหนึ่งหน่วยอาหาร แสดงให้เห็นว่าสัตว์น้ำมีความสามารถในการเปลี่ยนอาหารที่กินเข้าไปเป็นน้ำหนักตัว โดยอาหารที่เหมาะสมต่อสัตว์น้ำควรมีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำ ผลการทดลองพบว่าอาหารสูตรควบคุม, เสริมนิวคลีโอไทด์ 1%, เสริมนิวคลีโอไทด์ 2%, เสริมบริเวอร์ยีสต์ 1%, เสริมบริเวอร์ยีสต์ 2% มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเท่ากับ 1.22 ± 0.08,

1.22 ± 0.07, 1.05 ± 0.06, 1.05 ± 0.06 และ 1.06 ± 0.07 ตามลำดับ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยให้ค่าที่ต่ำกว่าการทดลองของนิพนธ์ และลือชัย (2543) ที่ให้เนื้อปลาสดเป็นอาหาร มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเท่ากับ 2.03 ธานินทร์ (2539) และ Chaitanawisuti and Kritsanapuntu (2000) ซึ่งให้เนื้อปลาข้างเหลือง (*Selaroides leptolepis*) เป็นอาหาร มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเท่ากับ 1.27 และ 1.68 ตามลำดับ ซึ่งในการเลี้ยงหอยหวานในเชิงพาณิชย์มีข้อเสียเปรียบจากการเลี้ยงด้วยปลาสดหลายประการ เช่นระยะเวลาในการเก็บรักษาสั้น เน่าเสียง่าย และขาดแคลนในบางฤดูกาล เป็นต้น (นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์, 2545)

อัตราการรอดของหอยหวาน

ระดับการเสริมบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน ไม่มีผลต่ออัตราการรอดของหอยหวานระยะวัยรุ่น เนื่องจากลูกหอยในระยะที่มีความยาวเปลือก 0.5 เซนติเมตรขึ้นไปเป็นระยะที่มีความทนทานต่อสิ่งแวดล้อมได้ดี เหมาะสมต่อการนำไปเลี้ยงเป็นหอยเนื้อที่ตลาดต้องการได้มีอัตราการรอดตายค่อนข้างสูง (บังอร ศรีมุกดา และคณะ, 2548) อีกทั้งการเลี้ยงในระบบน้ำแบบไหลผ่านตลอดมีประสิทธิภาพในการกำจัดของเสียภายในระบบได้ดี จึงลดความเสี่ยงจากของเสียตกค้างที่ส่งผลต่อคุณภาพน้ำซึ่งก่อให้เกิดโรคติดต่อภายในระบบ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าหอยหวานมีอัตรารอด 97.67 % ซึ่งสอดคล้องกับการเลี้ยงของ Peng and Delbert (2003) ที่พบว่าการเสริมบริเวอร์ยีสต์ที่ระดับ 1%, 2% และ 4% ไม่มีผลต่ออัตราการรอดของหอยหวาน โดยมีอัตราการรอดเท่ากันในทุกระดับ คือ 98.3% แต่กลับมีอัตราการรอดสูงกว่า McLean et al., (2006) ที่เสริมนิวคลีโอไทด์ในอาหาร pacific white shrimp ในระยะเวลา 40 วัน ซึ่งมีอัตราการรอดเพียง 67%

ประสิทธิภาพการต้านทานต่อโรควิบริโอซีส

เนื่องจากโรคที่เกิดในหอยหวานส่วนใหญ่เกิดจากแบคทีเรียแกรมลบ (Gram-negative) และแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive) ซึ่งแบคทีเรียแกรมลบที่สำคัญคือ แบคทีเรียในกลุ่มวิบริโอ (*Vibrio sp.)* ซึ่ง Friedman และ Hedrick (1991) รายงานว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้คือ *V. anguillarum, V. alginolyticus, V. harveyi* และ *V. tubiashii* ทำให้เกิดจุดเนื้อตาย (focal necrosis) หรือทำให้เกิดฝี (abscesses) บริเวณลำไส้ (digestive tract) ซึ่งในหอยหวานวัยอ่อนแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอสามารถก่อให้เกิดโรควิบริโอซีส (Vibriosis) ทำให้ลูกหอยตาย 100% ภายใน 24 ชั่วโมง ซึ่งเมื่อตรวจคุณภาพน้ำพบว่ามีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอมากกว่า 1 แสนเซลล์ต่อมิลลิเมตร ($>10^5$ cfu/ml.)

จากการศึกษาพบว่าระดับการเสริมบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันมีผลต่อความสามารถในการต้านทานจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *V. alginolyticus* ที่ระดับปริมาณเชื้อ 7.192 x 10^9 CFU/ml. เมื่อเลี้ยงที่ระยะเวลา 1 เดือน และ 4 เดือน โดยหอยหวานที่ได้รับอาหารเสริมบริเวอร์ยีสต์ 1% มีอัตราการรอดจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคสูงที่สุดทั้งในเดือนที่ 1 และเดือนที่ 4 คือ ร้อยละ 90.00 ± 22.36 และร้อยละ 80.00 ± 20.92 ตามลำดับ ในการทดลองของ Scholz et al,.(1999) พบว่า *Penaeus vannamei* ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม *Saccharomyces cerevisiae* มีอัตราการรอดที่ต่ำกว่าในการต้านทานจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi*

เมื่อศึกษาประสิทธิภาพการต้านทานต่อโรค (Relative Percent Survival, RPS) พบว่าระดับการเสริมบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันมีผลต่อความสามารถในการต้านทานจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *V. alginolyticus* ที่ระดับปริมาณเชื้อ 7.192 x 10^9 CFU/ml. เมื่อเลี้ยงที่ระยะเวลา 1 เดือน และ 4 เดือน พบว่าหอยหวานที่ได้รับอาหารเสริมบริเวอร์-ยีสต์ 1% มีประสิทธภาพการต้านทานจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคสูงที่สุดทั้งในเดือนที่ 1 และเดือนที่ 4 คือร้อยละ 84.62 และร้อยละ 76.92 ตามลำดับ

จากการเลี้ยงของ Burrels et al,.(2001) เลี้ยงปลาด้วยอาหารเสริมนิวคลีโอไทด์ 0.03% เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ก่อนทดสอบการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *V. anguillarum* พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมนิวคลีโอไทด์มีอัตรารอด 69% และประสิทธิภาพการต้านทานต่อโรค(RPS) เท่ากับ 37% ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการเสริมนิวคลีโอไทด์ 1% ในระยะเวลา 4 สัปดาห์ (1 เดือน) ในการศึกษานี้ที่มีอัตรารอด 65% และประสิทธิภาพการต้านทานต่อโรค (RPS) เท่ากับ 46.15%

ดังนั้นอาหารผสมจึงเป็นอีกทางเลือกที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงในระยะยาว อีกทั้งสามารถควบคุม และพัฒนาคุณค่าทางอาหารให้อยู่ในปริมาณที่ใกล้เคียงกับที่สัตว์น้ำต้องการได้ ซึ่งประสิทธิภาพของอาหารในการทดลองนี้แสดงออกโดยค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่ต่ำ เกิดจากการที่อาหารมีความสามารถในการคงรูปอยู่ได้ดีในน้ำทำให้หอยกินอาหารได้เต็มที่ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการเติบโตและเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านทานโรคได้ดียิ่งขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. การทดลองครั้งนี้ทำการเลี้ยงหอยหวานในระบบน้ำแบบไหลเวียนด้วยอัตรการไหล 32 ลิตรต่อชั่วโมง นับว่าเป็นการใช้ต้นทุนที่ค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงหอยหวานของเกษตรกรโดยทั่วไป ซึ่งควรลองปรับใช้กับการเลี้ยงหอยหวานในระบบที่ประหยัดต้นทุนมากยิ่งขึ้น

2. เนื่องจากการทดลองเสริมบริเวอร์ยีสต์และนิวคลีโอไทด์ให้ผลทางด้านการเติบโตทางความยาวเปลือก และน้ำหนักที่ไม่แตกต่างมากนัก จึงควรมีการศึกษาโดยปรับสัดส่วนที่เสริมลงในอาหารให้มีช่วงกว้างมากยิ่งขึ้น เพื่อพัฒนาประสิทธิภาพในการเติบโตได้อย่างเต็มที่

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ขนิษฐา แสงงาม. 2540. ผลของโปรตีนและไขมันในอาหารกึ่งสำเร็จรูปที่มีต่อการเติบโตของหอยหวาน *Babylonia areolata*. ปริญญานิพนธ์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 71 น.

ชนิกา คงสวัสดิ์. 2546. ผลของการใช้ยีสต์สกัดทดแทนปลาป่นบางส่วนในอาหารต่อการเติบโตของกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon*. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 83 น.

ชลลดา ปรีดา. 2526. การใช้ยีสต์จากโรงงานเบียนแทนปลาป่นในอาหารปลา. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 111 น.

ธานินทร สิงหะไกรวรรณ. 2539. การศึกษาชีววิทยาบางประการของหอยหวานในบ่อเลี้ยงเพื่อการผลิตพันธุ์สำหรับปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 57. ศูนย์พัฒนาประมงชายฝั่งตะวันออก กรมประมง.

นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์และศิรุษา กฤษณะพันธุ์. 2545. คู่มือการเพาะเลี้ยงหอยหวาน หลักการและแนวปฏิบัติ หนังสือในโครงการจัดพิมพ์เผยแพร่ รายงานการวิจัย ลำดับที่ 8. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 114 หน้า.

บังอร ศรีมุกดา สุรชาติ ฉวีภักดิ์ และวริษฐา หนูปิ่น. 2548. การผลิตลูกหอยหวาน *Babylonia areolata* Link, 1807 เชิงพาณิชย์. เอกสารวิชาการฉบับที่ 24/2548. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจันทบุรี สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง.

มะลิ บุณยรัตผลิน. 2531. อาหารและการให้อาหารกุ้งกุลาดำ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ช่องนนทรี จำกัด.

มลฤดี สิทธิพันธ์, อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และ กิจการ ศุภมาตย์. 2543. สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันและการใช้วัคซีนในกุ้งกุลาดำ: I การสกัดสารบีต้ากลูแคนจากยีสต์และการประยุกต์ใช้ในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius). วารสารสงขลานครินทร์ วทท. 22(ฉบับพิเศษ), 653-662.

ภาษาอังกฤษ

Boonyaratpalin, M. 1991. Asian seabass, *Lates calcalifer*. In Handbook of Nutrition Requirements of Finfish. CRC press 5-11.

Burrells, C., P.D. Williams and P.F. Forno. 2001. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds: 1. Effects on resistance to disease in salmonids. Aquaculture 199:159-169.

Chaitanawisuti, N. and Kritsanapuntu, A. 1997. Laboratory spawning and juvenile rearing of the marine gastropod Spotted Babylon *Babylonia areolata* Link 1807 (Neogastropoda Buccinidae). In Thailand. Journal of Shellfish Research. 16. 31-37.

Chaitanawisuti, N. and Kritsanapuntu, A. 1999. Effects of different feeding regimes on growth, survival and feed conversion of hatchery-reared juveniles of the gastropod mollusk Spotted Babylon *Babylonia areolata* Link 1807 in flowthrough culture systems. Journal of Aquaculture Research. 30. 589-593.

Chaitanawisuti, N. and Kritsanapuntu, S. 2000. Growth and production of hatchery reared juveniles Spotted Babylon *Babylonia areolata* Link 1807 cultured to marker size in intensive flowthrough and semi-closed recirculating water systems. Journal of Aquaculture Research. 31. 415-419.

Chaitanawisuti, N., Kritsanapuntu, S., Natsukari, Y., and Kathinmai, S. 2001. Effects of feeding rates on the growth, survival and feed utilization of hatchery-reared juveniles of the gastropod mollusk Spotted Babylon *Babylonia areolata* Link 1807 in flowthrough culture systems. Journal of Aquaculture Research. 32. 689-692.

Chaitanawisuti, N., Kritsanapuntu, S., and Natsukari, Y. 2002. Economic analysis of a pilot Commercial production for spotted babylon, *Babylonia areolata*, of marketable sizes using a flow-through culture system in Thailand. Jounal of Aquaculture Research. 33. 1265-1272.

Cheng, T.C. 2000. Noninfectious diseases of marine mollusces. CRC Press, Florida. 289p.

Devresse, B. 2000. Nucleotides: a key nutrient for the immune system of shrimp? Feed Mix 8(3):20-22.

Diehl, J. 2004. All in good taste: creating natural savoury flavorings from yeast. In T.P. Lyons and K.A. Jacques (eds). Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries. Proceedings of Alltech's 20th Annual Symposium, pp. 258-263. UK: Nottingham University Press.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 1990. Review of potentially harmful substances: choosing priority organochlorine for assessment. Report No.42, Rome.

Friedman, C.S. and R.P. Hedrick. 1999. Pacific oyster nocardiosis: isolation of the bacterium and induction of laboratory infections. Journal of Invertebrate Pathology. 57, 109-120.

Kasumyan, A.O. & K.B. Doving (2003). Taste preferences in the digestive tract of the sea-bream, *Sparus aurata*. *J.* Fish fishes. Fish and fisheries, 4 : 289-347.

Khardori, N. S. & Fainstein, V. (1988). *Aeromonas* and *Plesiomonas* as etiological agents. Annual Review of Microbiology 42, 395-419.

Li, P., Gatlin, D.M., 2004. Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotic TM AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. Aquaculture 231, 445-456.

Li, P., Gatlin, D.M., 2005. Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications. Aquaculture 251, 141-152.

Mead, A.R. 1963. Disease, decline and predation in giant snail populations of Hawii. Ann.Rept.Amer.Malacol.Union. 22p.

Mendoza, R., A.D. Dios, C. Vazquez, E. Cruz, D. Ricque, C. Aquilera and J. Montemayor. 2001. Fishmeal replacement with feather-enzymatic hydrolyzates co-extruded with soya-bean meal in practical diets for the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture. Nutr. 7:143-151.

Panichasuk, P. 1996. Areolata babylon, *Babylonia areolata* Link 1807. Thai Fishery Gazette, 49: 107-117.

Perkins, F.O. 1990. Haplosporidia. Boston, Jones and Bartlett Publishers Corp. 29p.

Quan, R. 1992. Dietary nucleotides: potential for immune enhancement. In: Foods, Nutrition and Immunity (M. Paubert-Braquet, C. Dupont and R. Paoletti, eds). Dyn. Nutr. Res. 1. Karger, Basel, pp. 13- 21.

Sinderman, C.J. 1970. Principal diseases of marine fish and shellfish. Academic Press, New York. 369 p.

Siwicki AK, Anderson DP, Rumsey GL 1994: Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout effects non-specific immunity and protection against furuncluosis. Vet Immunol Immunopathol 41: 125-139.

Takeda M. and K. Takii. 1992. Gustation and nutrition in fishes: application to aquaculture. In: Fish hemoreception (T.J. Hara, ed.). Chapman and Hall, London, UK pp. 271-287.

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์คุณภาพอาหาร

1. การวิเคราะห์โปรตีน (crude protein) ในอาหารสัตว์

การวิเคราะห์โปรตีนมี 3 ขั้นตอนดังนี้

1. การย่อยตัวอย่างอาหารให้อยู่ในรูปสาระละลาย
2. การหาปริมาณโปรตีนโดยการกลั่นสารละลายที่ได้จากการย่อยตัวอย่างอาหาร
3. การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4)

การเตรียมสารเคมี

1. Protein catalyst เตรียมจาก $CuSO_4$ 7 กรัม ผสมกับ K_2SO_4 100 กรัม
2. 4% boric acid เตรียมจาก boric acid 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร
3. tashiro indicator เตรียมจาก methyl red : methylyne blue สัดส่วน 3 : 2 โดยละลาย methyl red 1 กรัม ใน NaOH เข้มข้น 0.1 N ปริมาตร 37 มิลลิลิตรและน้ำกลั่น ให้มีปริมาตรรวมเป็น 1 ลิตร ผสมกับสารละลาย methylyne blue 1 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร
4. 0.5 N H_2SO_4 เตรียมจากสูตร

$$V = (100 \times M \times N) / a \times p \times d$$

เมื่อ V = ปริมาตรของสารที่ใช้เตรียมสารละลาย 1 ลิตร

M = น้ำหนักโมเลกุลของสาร

N = ความเข้มข้นเป็นนอร์มอล

a = จำนวนโปรตอนของกรดที่ทำปฏิกิริยาได้

p = เปอร์เซนต์ความบริสุทธิ์

d = ความหนาแน่นของสาร

5. เตรียม 0.5 N Na_2CO_3 โดยชั่ง Na_2CO_3 26.5 กรัม อบที่ 100 $^{\circ}C$ นาน 2 ชั่วโมง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การย่อยตัวอย่างอาหาร (Kjeldatherm digestion)

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างอาหารแห้งประมาณ 2 กรัม ใส่ใน digestion tube
2. เติม catalyst 10.01 กรัม ลงไปแล้วเติม H_2SO_4 เข้มข้น 25 มิลลิลิตร
3. นำ digestion tube ใส่ใน rack แล้วนำ rack ใส่ใน Kjeldatherm digestion block พร้อมทั้งประกอบท่อดูดควันระบบสูญญากาศทิ้งให้เกิดการย่อยจนได้สารประกอบสีดำ ประมาณ 20 นาที
4. เริ่มตั้งอุณหภูมิเครื่อง Kjeldatherm digestion block ไว้ที่ประมาณ 100 °C แล้วเพิ่มอุณหภูมิ 20 °C ทุกๆ 15-20 นาที จนอุณหภูมิถึง 380 °C
5. ปล่อยให้เกิดการย่อยสมบูรณ์ (สังเกตจากสีของสารละลายใน digestive tube จะขึ้นกับชนิดของ catalyst ซึ่งในการย่อยนี้จะได้สีฟ้า)
6. ปล่อยทิ้งไว้ให้สารละลายมีอุณหภูมิลดลงถึงอุณหภูมิห้อง
7. เติมน้ำกลั่นลงใน digestion tube ให้น้ำใน tube มีปริมาณมากพอที่จะนำไปกลั่นได้ (เติมประมาณ 100-150 มิลลิลิตร)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การกลั่นสารละลายเพื่อนำไปหาโปรตีน

วิธีการทดลอง

1. เปิดเครื่องมือ vapodest 1 โยกคันโยกมาอยู่ในตำแหน่ง fill เพื่อปล่อยน้ำเข้าสู่ boiler จนได้ระดับน้ำประมาณ 6/10 ของboiler แล้วโยกคันโยกมาที่ตำแหน่ง stand by น้ำใน boiler จะเริ่มเดือด ไม่ควรเติมน้ำมากเกินไปเพราะเวลาน้ำเดือดจะล้นเข้ามาอยู่ใน digestion tube
2. เติม 4% boric acid 100 มิลลิลิตร ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 มิลลิลิตร หยด tashiro indicator ลงไป 5-6 หยด จะได้สารละลายสีม่วง
3. วาง flask ที่มี boric acid ไว้ในตำแหน่งที่มี drainage tube โดยปล่อยให้ปลาย drainage tube จุ่มอยู่ในสารละลายตลอดเวลา
4. นำ digestive tube ที่มีตัวอย่างที่ dilute แล้ว ไปวางบน clamp โดยให้ส่วนปลายของ tube แนบสนิทกับ cone-shape rubber stopper
5. เมื่อน้ำเริ่มเดือดเป็นไอให้กดปุ่ม “add NaOH” เพื่อให้ 50%NaOH solution ไหลเข้าสู่ digestive tube สารลายใน digestive tube จะเกิดฟองก๊าซเกิดขึ้น กดปุ่ม added NaOH ไปเรื่อยๆ จนไม่เกิดฟอง (ซึ่งสารละลายใน digestive tube จะมีตะกอนขุ่น) เติม NaOH ให้มากเกินพออีกประมาณ 10 มิลลิลิตร ถ้าในตัวอย่างอาหารมีสารประกอบไนโตรเจนมาก สีของสารละลาย boric acid + tashiro indicator จะเริ่มเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเขียว ในขั้นตอนนี้จะต้องปล่อยน้ำไหลเข้า condenser ตลอดเวลา เพื่อให้ก๊าซ NH_3 ควบแน่นไหลเข้าสู่ flask ที่บรรจุ boric acid
6. โยกคันโยกมาที่ตำแหน่ง distillation เพื่อให้ไอน้ำเข้าไปใน digestion tube และปล่อยให้เกิดการกลั่นจนได้สารละลายใน flask ที่มี boric acid จนได้ปริมาตรเป็น 300 มิลลิลิตร แล้วให้โยกคันโยกมาที่ตำแหน่ง stand by จึงถอด digestion tube ออก
7. นำ flask ที่มี boric acid และ tashiro indicator ไปไตรเตรทกับสารละลาย standard H_2SO_4 ความเข้มข้นประมาณ 0.5N จนถึงจุดยุติซึ่งสารละลายใน flask จะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงอ่อน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของกรด H_2SO_4 (Skoog and West, 1986)

วิธีการทดลอง

1. เตรียมสารละลาย 0.5 N H_2SO_4 และ 0.5 N Na_2CO_3
2. ปิเปต 0.5 N Na_2CO_3 25 มิลลิลิตร ใส่ใน flask หยด methyl orange 2-3 หยด ไตเตรทกับ 0.5 N H_2SO_4 จนถึงจุดยุติ จะได้สีชมพูเหลือง

คำนวณหาความเข้มข้นของ H_2SO_4 จาก

$$N_{acid} = (N_{base} \times V_{base})/V_{acid}$$

โดย N_{acid} = ความเข้มข้นของสารละลาย H_2SO_4 เป็นนอร์มอล

N_{base} = ความเข้มข้นของสารละลาย Na_2CO_3 เป็นนอร์มอล

V_{base} = ปริมาตรของสารละลาย Na_2CO_3 เป็นมิลลิลิตร

V_{acid} = ปริมาตรของสารละลาย H_2SO_4 เป็นมิลลิลิตร

การคำนวณหาปริมาณโปรตีน

$$\text{โปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{1400 \times V_s \times N_s \times N_p}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง(กรัม)} \times 1000}$$

โดย V_s = ปริมาตรของ H_2SO_4 ที่ใช้ในการไตเตรทเป็นมิลลิลิตร

N_s = ความเข้มข้นของสารละลาย H_2SO_4 ใช้ในการไตเตรทเป็นนอร์มอล

N_p = conversion factor (มีค่า 6.25)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น

ความชื้นของตัวอย่างอาหารสัตว์จะถูกดึงไปโดยการระเหยด้วยความร้อนจนกระทั่งได้น้ำหนักของอาหารที่เหลืออยู่คงที่ ซึ่งน้ำหนักที่สูญหายไปของอาหารก็คือความชื้นของอาหาร

วิธีการทดลอง

1. อบถ้วยอลูมิเนียมที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น (desicator) แล้วชั่งน้ำหนักละเอียด
2. ชั่งตัวอย่างอาหารแห้ง(รู้น้ำหนักละเอียด) ประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยอลูมิเนียม
3. เผาใน muffer furnace ที่ 105 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง
4. ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น (desicator)
5. ชั่งน้ำหนักละเอียด
6. คำนวณความชื้น (ร้อยละ) จากสูตร

$$\text{ความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(\text{น้ำหนักอาหารก่อนอบ} - \text{น้ำหนักอาหารหลังอบ})}{\text{น้ำหนักอาหารก่อนอบ}}$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า

เมื่อนำตัวอย่างอาหารสัตว์ไปเผาไหม้ที่อุณหภูมิ 600 °C สารอินทรีย์ทั้งหมดจะถูกเผาไหม้ ส่วนที่เหลืออยู่คืออนินทรีย์สาร โดยอนินทรีย์สารทั้งหมดที่ไม่ได้ระเหยไปในอุณหภูมิดังกล่าว เรียกว่า เถ้า (ash) ซึ่งเถ้าคือแร่ธาติที่มีอยู่ในอาหาร

วิธีการทดลอง

1. อบ crucible ที่ 105 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น (desicator) แล้วชั่งน้ำหนักละเอียด
2. ชั่งน้ำหนักแห้ง (รู้น้ำหนักละเอียด) ประมาณ 2 กรัม ใส่ใน crucible
3. วาง crucible บน hotplate ปล่อยให้เกิดการ ignite ในตู้ดูดควันจนหมดควัน
4. ย้าย crucible ไปเผาใน muffer furnace ที่ 600 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง
5. ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น (desicator) แล้วชั่งน้ำหนักละเอียด
6. คำนวณร้อยละปริมาณเถ้าจากสูตร

$$\text{เถ้า} = \frac{\text{ปริมาณเถ้าที่เหลือ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}} \times 100$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

อีเทอร์จะถูกระเหยเป็นไอติดต่อกันหลังจากนั้นไอของอีเทอร์กระทบความเย็นจากเครื่องควบแน่นแล้วกลั่นตัวกลับเป็นของเหลว และไหลผ่านตัวอย่างอาหารสัตว์ พร้อมทั้งสกัดสารที่สามารถละลายได้ในอีเทอร์ออกมาด้วยจนกระทั่งกระบวนการเสร็จสิ้นอีเทอร์จะถูกระเหยหรือทำให้แห้งไปจนหมด สิ่งที่เหลืออยู่คือไขมัน (crude fat) หรือที่เรียกว่า ether extract

วิธีการทดลอง

1. อบขวดสกัดไขมันของเคื่องที่ 130 °C ใช้เวลา 2-3 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่ ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น (desicator) แล้วชั่งน้ำหนักละเอียด
2. ชั่งตัวอย่างแห้ง (รู้น้ำหนักละเอียด) ประมาณ 2 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1
3. ใส่ตัวอย่างที่ห่อด้วยกระดาษกรองแล้วใส่ใน trimble หลังจากนั้นใส่ trimble ลงในขวดสกัดไขมันของเครื่อง
4. เติม petroleum ether 90 มิลลิลิตร ลงในขวดสกัดไขมัน (ระวังอย่าให้ trimble แช่อยู่ใน petroleum ether)
5. นำขวดสกัดไขมันไปประกอบกับเครื่อง soxtherm เปิดสวิตช์ oil bath แล้วตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 150 °C แล้วเปิดสวิตช์ที่ pressure control pump เปิด cooler ให้น้ำเย็นไหลเข้าสู่ condernser ของเครื่อง soxtherm
6. เลื่อนคันโยกที่เครื่อง soxtherm มายังตำแหน่งที่จะทำให้เกิดการ reflux กลับของ petroleum ether ปล่อยให้เกิดการสกัดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง
7. เลื่อนคันโยกที่เครื่อง soxtherm มายังตำแหน่งที่ทำให้เกิดการกลั่นเก็บของ petroleum ether รอจน petroleum ether แห้งเกือบหมด
8. นำขวดสกัดไขมันไปอบที่ 100 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น (desicator)
9. นำขวดสกัดไขมันไปชั่งน้ำหนักละเอียด
10. คำนวณร้อยละของไขมันจากสูตร

$$\text{ไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักของไขมัน}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}} \times 100$$

5. การวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใย (fiber)

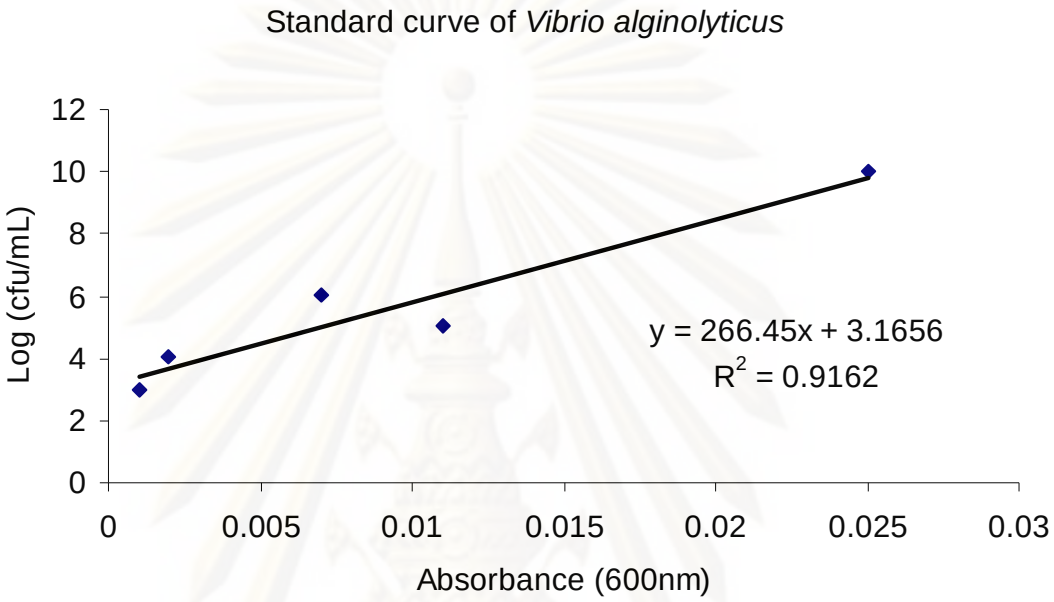
นำอาหารที่สกัดไขมันออกแล้วไปย่อยด้วยสารละลายกรดเจือจาง หลังจากนั้นอาหารจะถูกย่อยต่อไปด้วยสารละลายด่างเจือจาง สารที่เหลืออยู่ถูกกรองเก็บไว้ในกระดาษกรองใน crucible แล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 600 °C ซึ่งน้ำหนักที่สูญหายไปในการเผาคือเยื่อใยทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหารนั่นเอง

วิธีการทดลอง

1. อบกระดาษกรองเบอร์ 41 และ crucible ที่ 105 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น (desicator) จนได้น้ำหนักคงที่ แล้วชั่งน้ำหนักละเอียด
2. นำตัวอย่างที่สกัดไขมันออกไปแล้ว (ทราบน้ำหนักละเอียดเริ่มต้นของตัวอย่างก่อนสกัดไขมัน) ใส่ลงใน beaker ทรงสูงขนาด 600 มิลลิลิตร เติม H_2SO_4 เข้มข้น 0.225N ลงไป 200 มิลลิลิตร ต่อ condenser เข้ากับ beaker เพื่อรักษาระดับของกรดให้คงที่ เปิด heater ให้ความร้อนกับกรดจนเดือด ทำการย่อยต่อเป็นเวลา 30 นาที
3. กรองสารละลายที่ได้จากข้อ 2 ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41 จนหมด (ไม่ควรให้มีตะกอนเหลือค้างอยู่ใน beaker) ล้างตะกอนที่ค้างอยู่บนกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่นจนหมดความเป็นกรด
4. นำส่วนที่เหลือบนกระดาษกรองใส่ลงใน beaker ในข้อ 2 จนหมด เติมสารละลาย NaOH เข้มข้น 0.131N ลงไป 200 มิลลิลิตร ใช้สารละลายนี้ล้างสารตัวอย่างบนกระดาษกรองให้หมด แล้วจึงต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาที
5. กรองเอาสารละลายจากข้อ 4 ด้วยกระดาษกรองแผ่นเดิมแล้วล้างด้วยตัวอย่างจนหมดความเป็นด่างด้วยน้ำกลั่น ล้างตะกอนด้วย 95% ethyl alcohol ประมาณ 30 มิลลิลิตร นำตัวอย่างที่เหลือบนกระดาษกรองไปอบให้แห้งที่ 100 °C
6. นำตะกอนพร้อมกระดาษกรองไปเผาเพื่อหาเถ้าโดยใส่ไว้ใน crucible ที่ทราบน้ำหนักละเอียดแล้ว ทิ้งให้เย็นใน desicator แล้วนำไปชั่งน้ำหนักละเอียด
7. คำนวณร้อยละของเยื่อใยจากสูตร

$$\text{เยื่อใย (ร้อยละ)} = \frac{[(\text{น้ำหนักตะกอน+กระดาษกรอง})-(\text{น้ำหนักกระดาษกรอง} - \text{ปริมาณเถ้า})] \cdot}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}}$$

ภาคผนวก ข
การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย



ภาพที่ 15 Standard curve ของ *Vibrio alginolyticus*

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 16 ปริมาณเชื้อ *V. alginolyticus* ที่ทำให้หอยหวานตาย 50% ภายใน 24 ชั่วโมง (LD_{50})

C	ln C	n	nD	nA	∑D	∑A	T	M
Control	-	11	1	10	1	42	43	2.33
$1x10^{3}$	6.9078	12	1	11	2	32	35	5.71
$1x10^{7}$	16.1180	12	2	10	4	21	25	16.00
$1x10^{10}$	23.0259	11	4	7	8	11	19	42.11
$1x10^{13}$	29.9336	12	8	4	16	4	20	80.00

C = ความเข้มข้นของ *V. alginolyticus* (CFU mL^{-1})

n = จำนวนหอยหวานแต่ละความเข้มข้น

nD = จำนวนหอยหวานที่ตาย

nA = จำนวนหอยหวานที่รอด

∑D = จำนวนรวมหอยหวานที่ตาย

∑A = จำนวนรวมหอยหวานที่รอด

T = ∑D + ∑A แต่ละความเข้มข้น

M = (∑D/T) x 100

ln CA 50% = ln(ความเข้มข้นที่หอยหวานตายน้อยกว่า 50%)

ln CB 50% = ln(ความเข้มข้นที่หอยหวานตายมากกว่า 50%)

MA 50% = ตายมากกว่า 50%

MB 50% = ตายน้อยกว่า 50%

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การคำนวณปริมาณเชื้อ *V. alginolyticus* ที่ทำให้หอยหวานตาย 50% ภายใน 24 ชั่วโมง (LD_{50})

$$LD_{50} = \text{ln CB 50\%} + \frac{(50 - \text{MB 50\%} - \text{ln CB 50\%})}{(\text{MA 50\%} - \text{MB 50\%})}$$

$$LD_{50} = 23.03 + \frac{(50.00 - 42.11) \times (29.93 - 23.03)}{(80.00 - 42.11)}$$

$$LD_{50} = 24.4668$$

$$\text{Exp}(LD_{50}) = 4.24 \times 10^{10} \text{ CFU mL}^{-1}$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

คุณค่าทางโภชนาการของอาหารหอยหวาน

ตารางที่ 17 Descriptive คุณค่างทางโภชนาการของอาหารหอยหวานแต่ละสูตร

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Protein	Control	3	40.3400	.31796	.18358	39.5501	41.1299	40.05	40.68
	Nucleotide 1%	3	40.3100	.33407	.19287	39.4801	41.1399	40.01	40.67
	Nucleotide 2%	3	40.1900	.14731	.08505	39.8241	40.5559	40.10	40.36
	Brewer’s yeast 1%	3	40.2600	.10536	.06083	39.9983	40.5217	40.15	40.36
	Brewer’s yeast 2%	3	40.3800	.13000	.07506	40.0571	40.7029	40.30	40.53
	Total	15	40.2960	.20528	.05300	40.1823	40.4097	40.01	40.68
Lipid	Control	3	9.2400	.13528	.07810	8.9040	9.5760	9.11	9.38
	Nucleotide 1%	3	9.1800	.14107	.08145	8.8296	9.5304	9.05	9.33
	Nucleotide 2%	3	9.2500	.06557	.03786	9.0871	9.4129	9.19	9.32
	Brewer’s yeast 1%	3	9.2200	.21517	.12423	8.6855	9.7545	9.00	9.43
	Brewer’s yeast 2%	3	9.2700	.15100	.08718	8.8949	9.6451	9.13	9.43
	Total	15	9.2320	.13018	.03361	9.1599	9.3041	9.00	9.43

ตารางที่ 17 (ต่อ) Descriptive คุณค่างทางโภชนาการของอาหารหอยหวานแต่ละสูตร

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Ash	Control	3	13.6300	.14799	.08544	13.2624	13.9976	13.53	13.80
	Nucleotide 1%	3	13.7100	.21932	.12662	13.1652	14.2548	13.55	13.96
	Nucleotide 2%	3	13.5800	.25865	.14933	12.9375	14.2225	13.35	13.86
	Brewer’s yeast 1%	3	13.7400	.15716	.09074	13.3496	14.1304	13.56	13.85
	Brewer’s yeast 2%	3	13.6700	.21378	.12342	13.1390	14.2010	13.50	13.91
	Total	15	13.6660	.18185	.04695	13.5653	13.7667	13.35	13.96
Fiber	Control	3	4.7500	.10392	.06000	4.4918	5.0082	4.63	4.81
	Nucleotide 1%	3	4.7800	.14422	.08327	4.4217	5.1383	4.66	4.94
	Nucleotide 2%	3	4.6900	.10149	.05859	4.4379	4.9421	4.58	4.78
	Brewer’s yeast 1%	3	4.7900	.07550	.04359	4.6025	4.9775	4.71	4.86
	Brewer’s yeast 2%	3	4.7000	.12124	.07000	4.3988	5.0012	4.59	4.83
	Total	15	4.7420	.10332	.02668	4.6848	4.7992	4.58	4.94

ตารางที่ 17 (ต่อ) Descriptive คุณค่างทางโภชนาการของอาหารหอยหวานแต่ละสูตร

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Moisture	Control	3	11.2300	.10817	.06245	10.9613	11.4987	11.11	11.32
	Nucleotide 1%	3	11.1700	.10817	.06245	10.9013	11.4387	11.05	11.26
	Nucleotide 2%	3	11.3200	.05196	.03000	11.1909	11.4491	11.26	11.35
	Brewer’s yeast 1%	3	11.2900	.12000	.06928	10.9919	11.5881	11.17	11.41
	Brewer’s yeast 2%	3	11.2700	.04583	.02646	11.1562	11.3838	11.22	11.31
	Total	15	11.2560	.09478	.02447	11.2035	11.3085	11.05	11.41

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 18 ตาราง ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Protein	Between Groups	.065	4	.016	.310	.865
	Within Groups	.525	10	.052		
	Total	.590	14			
Lipid	Between Groups	.014	4	.004	.157	.955
	Within Groups	.223	10	.022		
	Total	.237	14			
Ash	Between Groups	.048	4	.012	.292	.877
	Within Groups	.415	10	.041		
	Total	.463	14			
Fiber	Between Groups	.025	4	.006	.498	.738
	Within Groups	.125	10	.012		
	Total	.149	14			
Moisture	Between Groups	.041	4	.010	1.190	.373
	Within Groups	.085	10	.009		
	Total	.126	14			

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 19 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของโปรตีน

Formula	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Nucleotide 2%	3	40.1900
Brewer's yeast 1%	3	40.2600
Nucleotide 1%	3	40.3100
Control	3	40.3400
Brewer's yeast 2%	3	40.3800
Sig.		.370

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 20 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของไขมัน

Formula	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Nucleotide 1%	3	9.1800
Brewer's yeast 1%	3	9.2200
Nucleotide 2%	3	9.2400
Control	3	9.2500
Brewer's yeast 2%	3	9.2700
Sig.		.510

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 21 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของเถ้า

Formula	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Nucleotide 2%	3	13.5800
Control	3	13.6300
Brewer's yeast 2%	3	13.6700
Nucleotide 1%	3	13.7100
Brewer's yeast 1%	3	13.7400
Sig.		.395

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 22 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของเยื่อใย

Formula	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Nucleotide 2%	3	4.6900
Brewer's yeast 2%	3	4.7000
Control	3	4.7500
Nucleotide 1%	3	4.7800
Brewer's yeast 1%	3	4.7900
Sig.		.335

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 23 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของความชื้น

Formula	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Nucleotide 1%	3	11.1700
Control	3	11.2300
Brewer's yeast 2%	3	11.2700
Brewer's yeast 1%	3	11.2900
Nucleotide 2%	3	11.3200
Sig.		.097

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง

ความสามารถในการต้านทานโรค (Challenge test)

ตารางที่ 24 Descriptive อัตราการรอดของหอยหวานในการต้านทานเชื้อ *Vibrio alginolyticus* ในเดือนที่ 1

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	5	35.0000	13.69306	6.12372	17.9978	52.0022	25.00	50.00
Nucleotide 1%	5	65.0000	28.50439	12.74755	29.6071	100.3929	25.00	100.00
Nucleotide 2%	5	50.0000	17.67767	7.90569	28.0503	71.9497	25.00	75.00
Brewer’s yeast 1%	5	90.0000	22.36068	10.00000	62.2355	117.7645	50.00	100.00
Brewer’s yeast 2%	5	60.0000	22.36068	10.00000	32.2355	87.7645	25.00	75.00
Total	25	60.0000	27.00309	5.40062	48.8537	71.1463	25.00	100.00

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 25 ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8250.000	4	2062.500	4.459	.010
Within Groups	9250.000	20	462.500		
Total	17500.000	24			

ตารางที่ 26 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของอัตรารอดในเดือนที่ 1

Formula	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Control	5	35.0000	
Nucleotide 2%	5	50.0000	
Brewer's yeast 2%	5	60.0000	
Nucleotide 1%	5	65.0000	65.0000
Brewer's yeast 1%	5		90.0000
Sig.		.055	.081

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 27 Descriptive อัตราการรอดของหอยหวานในการต้านทานเชื้อ *Vibrio alginolyticus* ในเดือนที่ 4

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	5	30.0000	20.91650	9.35414	4.0287	55.9713	.00	50.00
Nucleotide 1%	5	70.0000	20.91650	9.35414	44.0287	95.9713	50.00	100.00
Nucleotide 2%	5	60.0000	28.50439	12.74755	24.6071	95.3929	25.00	100.00
Brewer’s yeast 1%	5	80.0000	20.91650	9.35414	54.0287	105.9713	50.00	100.00
Brewer’s yeast 2%	5	65.0000	28.50439	12.74755	29.6071	100.3929	25.00	100.00
Total	25	61.0000	28.02529	5.60506	49.4317	72.5683	.00	100.00

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 28 ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7100.000	4	1775.000	3.021	.042
Within Groups	11750.000	20	587.500		
Total	18850.000	24			

ตารางที่ 29 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของอัตรารอดในเดือนที่ 4

Formula	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Control	5	30.0000	
Nucleotide 2%	5	60.0000	60.0000
Brewer's yeast 2%	5		65.0000
Nucleotide 1%	5		70.0000
Brewer's yeast 1%	5		80.0000
Sig.		.064	.246

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ภาคผนวก จ

ผลของการเสริมบริเวอร์ยีสต์ และนิวคลีโอไทด์ในอาหารผสมต่อการเจริญเติบโต

ตารางที่ 30 Descriptive ความยาวเปลือกเฉลี่ย ค่าการเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือก อัตราการเจริญเติบโตโดยความยาวเปลือก และร้อยละของความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้นของหอยหวาน

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Average shell length	Control	3	2.5433	.05033	.02906	2.4183	2.6684	2.49	2.59
	Nucleotide 1%	3	2.5967	.08327	.04807	2.3898	2.8035	2.53	2.69
	Nucleotide 2%	3	2.6633	.11150	.06438	2.3863	2.9403	2.58	2.79
	Brewer’s yeast 1%	3	2.6767	.05508	.03180	2.5399	2.8135	2.64	2.74
	Brewer’s yeast 2%	3	2.6067	.06110	.03528	2.4549	2.7584	2.54	2.66
	Total	15	2.6173	.08119	.02096	2.5724	2.6623	2.49	2.79
Shell length increment	Control	3	1.2633	.07638	.04410	1.0736	1.4531	1.18	1.33
	Nucleotide 1%	3	1.3100	.07937	.04583	1.1128	1.5072	1.25	1.40
	Nucleotide 2%	3	1.3800	.12490	.07211	1.0697	1.6903	1.28	1.52
	Brewer’s yeast 1%	3	1.3933	.05859	.03383	1.2478	1.5389	1.35	1.46
	Brewer’s yeast 2%	3	1.2933	.10017	.05783	1.0445	1.5422	1.19	1.39
	Total	15	1.3280	.09275	.02395	1.2766	1.3794	1.18	1.52

ตารางที่ 30 (ต่อ) Descriptive ความยาวเปลือกเฉลี่ย ค่าการเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือก อัตราการเจริญเติบโตโดยความยาวเปลือก และร้อยละของความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้นของหอยหวาน

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Growth in shell length	Control	3	.3167	.01528	.00882	.2787	.3546	.30	.33
	Nucleotide 1%	3	.3267	.02082	.01202	.2750	.3784	.31	.35
	Nucleotide 2%	3	.3467	.03055	.01764	.2708	.4226	.32	.38
	Brewer’s yeast 1%	3	.3500	.01732	.01000	.3070	.3930	.34	.37
	Brewer’s yeast 2%	3	.3267	.02517	.01453	.2642	.3892	.30	.35
	Total	15	.3333	.02320	.00599	.3205	.3462	.30	.38
Percent shell length increase	Control	3	98.2867	7.78209	4.49299	78.9549	117.6185	90.08	105.56
	Nucleotide 1%	3	1.0235E2	6.20240	3.58096	86.9391	117.7543	97.66	109.38
	Nucleotide 2%	3	1.0761E2	10.91273	6.30047	80.5046	134.7221	98.46	119.69
	Brewer’s yeast 1%	3	1.0858E2	4.89274	2.82482	96.4258	120.7342	104.65	114.06
	Brewer’s yeast 2%	3	98.9467	10.65303	6.15053	72.4831	125.4103	88.15	109.45
	Total	15	1.0315E2	8.38878	2.16597	98.5091	107.8002	88.15	119.69

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 31 ตาราง ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Average shell length	Between Groups	.035	4	.009	1.524	.268
	Within Groups	.057	10	.006		
	Total	.092	14			
Shell length increment	Between Groups	.038	4	.010	1.154	.387
	Within Groups	.082	10	.008		
	Total	.120	14			
Growth in shell length	Between Groups	.002	4	.001	1.217	.363
	Within Groups	.005	10	.001		
	Total	.008	14			
Percent shell length increase	Between Groups	274.115	4	68.529	.964	.468
	Within Groups	711.088	10	71.109		
	Total	985.203	14			

ตารางที่ 32 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของความยาวเปลือกเฉลี่ย

Formula	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Control	3	2.5433
Nucleotide 1%	3	2.5967
Brewer's yeast 2%	3	2.6067
Nucleotide 2%	3	2.6633
Brewer's yeast 1%	3	2.6767
Sig.		.076

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 33 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของค่าการเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือก

Formula	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Control	3	1.2633
Brewer's yeast 2%	3	1.2933
Nucleotide 1%	3	1.3100
Nucleotide 2%	3	1.3800
Brewer's yeast 1%	3	1.3933
Sig.		.138

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 34 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของอัตราการเจริญเติบโตโดยความยาวเปลือก

Formula	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Control	3	.3167
Nucleotide 1%	3	.3267
Brewer's yeast 2%	3	.3267
Nucleotide 2%	3	.3467
Brewer's yeast 1%	3	.3500
Sig.		.126

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 35 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของร้อยละของความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้น

Formula	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Control	3	98.2867
Brewer's yeast 2%	3	98.9467
Nucleotide 1%	3	102.3467
Nucleotide 2%	3	107.6133
Brewer's yeast 1%	3	108.5800
Sig.		.199

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 36 Descriptive การเจริญเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ย ค่าการเพิ่มขึ้นโดยน้ำหนัก อัตราการเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก และร้อยละของน้ำ หนักที่เพิ่มขึ้นของหอยหวาน

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Average weight increase	Control	3	3.5667	.25166	.14530	2.9415	4.1918	3.30	3.80
	Nucleotide 1%	3	3.6000	.10000	.05774	3.3516	3.8484	3.50	3.70
	Nucleotide 2%	3	4.0000	.36056	.20817	3.1043	4.8957	3.70	4.40
	Brewer’s yeast 1%	3	4.1000	.20000	.11547	3.6032	4.5968	3.90	4.30
	Brewer’s yeast 2%	3	3.9333	.25166	.14530	3.3082	4.5585	3.70	4.20
	Total	15	3.8400	.30659	.07916	3.6702	4.0098	3.30	4.40
Weight increment	Control	3	3.2000	.30000	.17321	2.4548	3.9452	2.90	3.50
	Nucleotide 1%	3	3.3000	.10000	.05774	3.0516	3.5484	3.20	3.40
	Nucleotide 2%	3	3.6667	.37859	.21858	2.7262	4.6071	3.40	4.10
	Brewer’s yeast 1%	3	3.7667	.25166	.14530	3.1415	4.3918	3.50	4.00
	Brewer’s yeast 2%	3	3.6000	.30000	.17321	2.8548	4.3452	3.30	3.90
	Total	15	3.5067	.32834	.08478	3.3248	3.6885	2.90	4.10

ตารางที่ 36 (ต่อ) Descriptive การเจริญเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ย ค่าการเพิ่มขึ้นโดยน้ำหนัก อัตราการเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก และร้อยละของน้ำ หนักที่เพิ่มขึ้นของหอยหวาน

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Growht in weight	Control	3	.8033	.07506	.04333	.6169	.9898	.73	.88
	Nucleotide 1%	3	.8267	.02517	.01453	.7642	.8892	.80	.85
	Nucleotide 2%	3	.9200	.09644	.05568	.6804	1.1596	.85	1.03
	Brewer’s yeast 1%	3	.9433	.06028	.03480	.7936	1.0931	.88	1.00
	Brewer’s yeast 2%	3	.9033	.07506	.04333	.7169	1.0898	.83	.98
	Total	15	.8793	.08207	.02119	.8339	.9248	.73	1.03
Percent weight gain	Control	3	9.9723E2	238.10809	1.37472E2	405.7400	1588.7266	725.00	1166.70
	Nucleotide 1%	3	1.1000E3	33.30000	19.22576	1017.2782	1182.7218	1066.70	1133.30
	Nucleotide 2%	3	1.2333E3	120.21740	69.40755	934.6968	1531.9699	1133.30	1366.70
	Brewer’s yeast 1%	3	1.2667E3	66.65001	38.48040	1101.0989	1432.2345	1200.00	1333.30
	Brewer’s yeast 2%	3	1.1083E3	250.41632	1.44578E2	486.2647	1730.4020	825.00	1300.00
	Total	15	1.1411E3	173.62061	44.82865	1044.9654	1237.2612	725.00	1366.70

ตารางที่ 37 ตาราง ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Average Weight increase	Between Groups	.703	4	.176	2.864	.081
	Within Groups	.613	10	.061		
	Total	1.316	14			
Weight increment	Between Groups	.716	4	.179	2.256	.135
	Within Groups	.793	10	.079		
	Total	1.509	14			
Growth in weight	Between Groups	.045	4	.011	2.246	.136
	Within Groups	.050	10	.005		
	Total	.094	14			
Percent weight gain	Between Groups	143203.371	4	35800.843	1.284	.339
	Within Groups	278814.267	10	27881.427		
	Total	422017.637	14			

ตารางที่ 38 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของการเจริญเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ย

Formula	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Control	3	3.5667	
Nucleotide 1%	3	3.6000	
Brewer's yeast 2%	3	3.9333	3.9333
Nucleotide 2%	3	4.0000	4.0000
Brewer's yeast 1%	3		4.1000
Sig.		.073	.450

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 39 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของค่าการเพิ่มขึ้นโดยน้ำหนัก

Formula	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Control	3	3.2000	
Nucleotide 1%	3	3.3000	3.3000
Brewer's yeast 2%	3	3.6000	3.6000
Nucleotide 2%	3	3.6667	3.6667
Brewer's yeast 1%	3		3.7667
Sig.		.088	.088

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 40 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของอัตราการเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก

Formula	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Control	3	.8033	
Nucleotide 1%	3	.8267	.8267
Brewer's yeast 2%	3	.9033	.9033
Nucleotide 2%	3	.9200	.9200
Brewer's yeast 1%	3		.9433
Sig.		.088	.088

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 41 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของร้อยละของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

Formula	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Control	3	997.2333
Nucleotide 1%	3	1100.0000
Brewer's yeast 2%	3	1108.3333
Nucleotide 2%	3	1233.3333
Brewer's yeast 1%	3	1266.6667
Sig.		.099

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 42 Descriptive **ของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	1.2200	.07810	.04509	1.0260	1.4140	1.13	1.27
Nucleotide 1%	3	1.2167	.06658	.03844	1.0513	1.3821	1.16	1.29
Nucleotide 2%	3	1.0500	.06000	.03464	.9010	1.1990	.99	1.11
Brewer’s yeast 1%	3	1.0533	.06110	.03528	.9016	1.2051	1.00	1.12
Brewer’s yeast 2%	3	1.0600	.07000	.04041	.8861	1.2339	.99	1.13
Total	15	1.1200	.10085	.02604	1.0641	1.1759	.99	1.29

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 43 ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.097	4	.024	5.318	.015
Within Groups	.046	10	.005		
Total	.142	14			

ตารางที่ 44 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ

Formula	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Nucleotide 2%	3	1.0500	
Brewer's yeast 1%	3	1.0533	
Brewer's yeast 2%	3	1.0600	
Nucleotide 1%	3		1.2167
Control	3		1.2200
Sig.		.866	.953

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวชัชรียา เชยชม เกิดเมื่อวันที่ 18 ธันวาคม พ.ศ.2525 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2548 หลังจากนั้นได้เข้าศึกษาในหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สหสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2549

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย