

การเสริมน้ำนิ่งปูม้าเหลือทิ้งเพื่อเป็นสารดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหาร ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปูม้า (*Portunus pelagicus*)

Effects of blue swimming crab steamed water as a attractant and palatable stimulant on growth and survival rates of blue swimming crabs (*Portunus pelagicus*)

ทิพย์สุตา ชังดเวช^{1*}

Thipsuda Changadvach^{1*}

¹สาขาวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี เพชรบุรี 76000

¹ Department of Aquaculture, Faculty of Agricultural Technology, Phetchaburi Rajabhat University, Phetchaburi 76000

บทคัดย่อ: การศึกษาการเสริมน้ำนิ่งปูม้าเหลือทิ้งในอาหารเพื่อเป็นสารดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหารของปูม้าต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตาย เพื่อหาระดับการเสริมน้ำนิ่งปูม้าที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปูม้า การทดลองมี 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ได้แก่ อาหารที่เสริมน้ำนิ่งปูม้าที่ระดับ 0 (ชุดควบคุม; T1), 2 (T2), 4 (T3), 6 (T4) และ 8 (T5) มล./อาหาร 100 ก. การทดลองพบว่า การเสริมน้ำนิ่งปูม้าที่ระดับ 2 มล./อาหาร 100 ก. มีร้อยละของจำนวนปูม้าที่เข้ากินอาหารมากที่สุด ($P<0.05$) และยังส่งผลให้ร้อยละของปูม้าที่เข้ากินอาหารในนาที่ที่ 1 และ 2 มากกว่าชุดการทดลองอื่น ($P<0.05$) แต่นาที่ที่ 5, 10, 15 และ 20 นาที การเสริมน้ำนิ่งปูม้าที่ระดับ 2 และ 4 มล./อาหาร 100 ก. มีร้อยละของจำนวนปูม้าที่เข้ากินอาหารมากกว่าชุดการทดลองอื่น ($P<0.05$) และยังเป็นระดับที่ดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหารทำให้ปูม้ามีการเจริญเติบโตทางด้านน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ความถี่ในการลอกคราบ อัตราการรอดตาย ปริมาณอาหารที่ปูม้ากิน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมากกว่าชุดการทดลองอื่น ($P<0.05$) ดังนั้นการเสริมน้ำนิ่งปูม้าในอาหารที่ระดับ 2 มล./อาหาร 100 ก. เป็นระดับการใช้น้ำนิ่งปูม้าที่น้อยที่สุดแต่มีความเหมาะสมต่อการเป็นสารดึงดูดและการกระตุ้นการกินอาหาร ปูม้าจึงมีการเจริญเติบโตและมีอัตราการรอดตายที่สูงที่สุด

คำสำคัญ: น้ำนิ่งปูม้า; สารดึงดูดการกินอาหาร; ปูม้า; การเจริญเติบโต; อัตราการรอดตาย

ABSTRACT: A study of wastewater supplement from blue swimming crab steamed water (BSSW) as attractant and palatable stimulant on its growth and survival rate of blue swimming crabs. The experiment aims to reveal the most suitable supplement level capable of increasing growth and survival rates. The experiment consisted of 5 treatments with 3 repetitions. The amounts of BSSW were added in blue swimming crab feed at the level 0 (control; (T1)), 2 (T2), 4 (T3), 6 (T4) and 8 (T5) ml/100 g feed. The results showed that T2 was the diet attracting the crabs compared to other diets ($P<0.05$). After fed at 1 and 2 minutes, T2 gave the significantly higher consumption rate (palatability) of crabs than the others ($P<0.05$). After fed time for 5, 10, 15 and 20 minutes, T2 and T3 showed the better consumption rate than T1, T4 and T5 ($P<0.05$) and gave better weigh gain, molting frequency, survival rate, TFI and FCR than the others ($P<0.05$). Therefore, the addition of BSSW to the diet as an attractant and palatable stimulant at the level of 2 ml/100 g of feed, which was the lowest level, was the most suitable for supplementing in blue swimming crab diet, by which the best growth and survival rates were observed.

* Corresponding author: boat030923@gmail.com

Keywords: blue swimming crab steamed water; attractant; blue swimming crab (*Portunus pelagicus*); growth; survival rates

บทนำ

ปูม้า (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1758) เป็นสัตว์ทะเลที่ถือว่ามีบทบาทสำคัญทางเศรษฐกิจ นิยมบริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศ ทำให้มีการพัฒนาไปสู่กระบวนการทางการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพื่อลดการจับจากธรรมชาติและเพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค ซึ่งในการเพาะเลี้ยงปูม้านั้น มักจะประสบปัญหาเกี่ยวกับอาหารที่ใช้ในการเลี้ยง เนื่องจากปูม้าเป็นสัตว์กินเนื้อ อาหารที่ใช้เลี้ยงส่วนใหญ่จึงนิยมเป็นเนื้อปลาสด เช่น เนื้อปลาช่อนเกล็ด เนื้อปลาสิกุล ที่ได้มาจากการทำประมง ทำให้ยากต่อการควบคุมคุณภาพ และส่งผลให้น้ำในบ่อเลี้ยงเน่าเสียได้ง่าย (วัฒนา และคณะ, 2557) ประกอบกับอาหารปูสำเร็จรูปมีต้นทุนในการผลิตสูง ราคาที่จำหน่ายจึงสูงตามไปด้วย เกษตรกรจึงเปลี่ยนมาใช้อาหารกุ้งสำเร็จรูป ที่มีโปรตีนไม่น้อยกว่า 40% เพื่อสะดวกต่อการจัดการและเป็นการลดต้นทุนในการเลี้ยงปูม้า

ในการเพาะเลี้ยงกลุ่มปูทะเล อาหารเป็นปัจจัยที่สำคัญเป็นต้นทุนหลักประมาณร้อยละ 50-70% ของต้นทุนผันแปรทั้งหมด (Chin et al., 1991) อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงจึงต้องมีคุณภาพและมีสารอาหารที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตโดยเฉพาะโปรตีน (Unnikrishnan and Paulraj, 2010) ซึ่งปูม้ามีความต้องการโปรตีนสูงถึง 35 – 45% แตกต่างกันไปตามช่วงวัย (บุญรัตน์, 2559; มณฑานติ และคณะ, 2551) โดยการผลิตอาหารเม็ดสำเร็จรูปของสัตว์น้ำ แหล่งโปรตีนหลัก ได้แก่ ปลาป่น เนื่องจากเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพดี มีกลิ่น และรสชาติที่สัตว์น้ำชอบ จึงมีการใช้ปลาป่นเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ปริมาณปลาป่นที่ผลิตได้มีปริมาณลดลง ตามการลดลงของปลาในแหล่งธรรมชาติ ปลาป่นจึงหาได้ยากและมีราคาสูง (วัฒนา และคณะ, 2554) การผลิตอาหารเม็ดสำเร็จรูปจึงมีการใช้โปรตีนจากแหล่งอื่น ๆ มาทดแทนปลาป่น รวมถึงโปรตีนจากพืช แต่ทั้งนี้โปรตีนจากพืชมีกรดอะมิโนอิสระน้อย และกรดอะมิโนอิสระมีคุณสมบัติเป็นสารดึงดูดการกินอาหาร (Alberto et al., 2006) อาหารจึงมีสารดึงดูดการกินอาหารลดลง ซึ่งอาหารที่มีสารดึงดูดการกินอาหารน้อย จะส่งผลให้สัตว์น้ำในกลุ่มครัสเตเชียนที่มีความไวต่อการรับสัมผัสสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น กรดอินทรีย์ นิวคลีโอไทด์ เปปไทด์สายสั้น ปีเทน รวมถึงกรดอะมิโนอิสระ (Montoya-Martinez et al., 2018) มีความสนใจในการกินอาหารน้อยลง หรือมีการตอบสนองต่อการเข้าหาอาหารช้า เกิดการสูญเสียหรือชะล้างสารอาหารที่เป็นประโยชน์ โดยเฉพาะ 30 นาทีแรกของการแช่อาหารในน้ำ ทำให้มีการใช้ประสิทธิภาพจากอาหารได้ไม่เต็มที่ อัตราการเจริญเติบโตจึงลดลง (อนงค์ และคณะ, 2553; Yuan et al., 2021) จากปัญหาดังกล่าวจึงมีการศึกษาที่หลากหลายเกี่ยวกับการเสริมสารดึงดูดหรือสารกระตุ้นความอยากกินอาหารให้กับสัตว์น้ำในกลุ่มครัสเตเชียนทั้งสารประกอบทางเคมี เช่น ไดเมทิลซัลไฟด์ ไตรเมทิลลามีนออกไซด์ สารบวมภูมิที่ผลิตขึ้นจากกระบวนการเผาผลาญอาหาร (primary metabolite) เช่น กรดไขมัน ฟอสโฟลิปิด โคล레스เตอรอล รวมถึงกรดอะมิโน (Bardera et al., 2020) โดยกรดอะมิโน เช่น ทอรีน ไฮดรอกซีโพรลีน ไกลซีน อาร์จินีน กรดกลูตามิก และอะลานีน (Tantikitti, 2014) เป็นสารสำคัญที่มีผลต่อการเป็นสารดึงดูดและกระตุ้นความอยากกินอาหาร แต่ทั้งนี้สารสังเคราะห์การดึงดูดการกินอาหารเหล่านี้มีราคาแพง (พิเชต และคณะ, 2561x) จึงได้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการนำเศษเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมมาใช้ เพื่อลดต้นทุนการผลิตและยังช่วยในการเป็นสารดึงดูดและกระตุ้นความอยากกินอาหาร เช่น การใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในอาหารกุ้งขาว การใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเศษทิ้งกุ้งในอาหารกุ้งกุลาดำ การเสริมน้ำนึ่งปลาในอาหารกุ้งก้ามกราม ซึ่งทั้งเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเศษทิ้งกุ้ง และน้ำนึ่งปลา วัตถุดิบเหล่านี้มีกรดอะมิโนอิสระ เช่น อะลานีน กรดแอสพาทิก กรดกลูตามิก และไกลซีน ที่มีส่วนช่วยในการเพิ่มกลิ่น รส และเป็นสารดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหารให้แก่สัตว์น้ำ (ชุติมา และไพรัตน์, 2552; ปิยามณั และคณะ, 2561; วัฒนา และคณะ, 2556; พิเชต และคณะ, 2561ก)

ในประเทศไทยพบปูม้าแพร่กระจายทั้งบริเวณชายฝั่งทะเลอันดามันตั้งแต่จังหวัดระนอง พังงา ภูเก็ต ตรัง สตูล และตลอดแนวบริเวณชายฝั่งทะเลอ่าวไทย เช่น จังหวัดจันทบุรี ระยอง ชลบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี (สุรัตน์ และคณะ, 2562; สุรพล, 2564) รวมถึงจังหวัดเพชรบุรี ทำให้อาชีพบริเวณชายฝั่งส่วนใหญ่มีการทำประมงปูม้า ตลอดจนมีแปรรูปและแกะเนื้อปูม้า โดยเศษเหลือทิ้งจากการนึ่งปูม้า ได้แก่ น้ำนึ่งปูม้า (blue swimming crab steamed water) และจากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าองค์ประกอบในร่างกายของสัตว์กลุ่มครัสเตเชียนจะมีสารประกอบทางเคมีที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ทั้งนิวคลีโอไทด์ และกรดอะมิโน ที่เป็น

สารตั้งต้นและกระตุ้นการกินอาหารทางธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพ (Montoya-Martínez et al., 2018) สอดคล้องกับการศึกษาของ Miguel et al. (2011) พบว่าในร่างกายของปูจะมีกรดอะมิโน โดยเฉพาะอะลานีน อาร์จินีน ไกลซีน และทอรีน ในปริมาณที่สูง ซึ่งมีผลในการเป็นสารตั้งต้นและกระตุ้นความอยากกินอาหารให้แก่ปูได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้หากพิจารณารูปแบบของการใช้สารเสริมในการดึงดูดการกินอาหารของสัตว์น้ำ ชูติมา และไพร์ตัน (2552) ยังพบว่าการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตในรูปแบบของเหลวเป็นสารเสริมในการดึงดูดและกระตุ้นความอยากกินอาหารด้วยการสเปรย์เคลือบเม็ดอาหารเป็นรูปแบบที่มีประสิทธิภาพมากกว่าการผสมโปรตีนไฮโดรไลเสตในรูปแบบแห้งเข้าไปในอาหาร ซึ่งจากการมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนดังกล่าวข้างต้น ประกอบกับน้ำนิ่งปูมีรูปแบบที่เป็นของเหลว น่าจะมีแนวทางนำน้ำนิ่งปูมาป้อนเป็นสารเสริมสำหรับอาหารเม็ดสำเร็จรูปในการเป็นสารตั้งต้นและกระตุ้นความอยากกินอาหารให้แก่ปูต่อไปได้ ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงได้มีการใช้น้ำนิ่งปูมาโดยการสเปรย์เคลือบเม็ดอาหารสำเร็จรูป และศึกษาถึงระดับการใช้น้ำนิ่งปูที่เหมาะสมต่อการเป็นสารตั้งต้นและกระตุ้นความอยากกินอาหาร และระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปู นอกจากนี้ยังเป็นการนำเศษเหลือทิ้งจากชุมชนมาใช้ให้เกิดประโยชน์ ตลอดจนเป็นแนวทางในการพัฒนาการผลิตอาหารเลี้ยงปูเชิงพาณิชย์ต่อไป

วิธีการศึกษา

การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำปูมาจำนวน 300 ตัว น้ำหนักเริ่มต้น 2.11 ± 0.09 ก./ตัว ความกว้างกระดอง 3.00 ± 0.07 ซม./ตัว และความยาวกระดอง 1.54 ± 0.03 ซม./ตัว จากจังหวัดสมุทรสาคร มาปรับสภาพการเลี้ยงในบ่อพักไฟเบอร์ขนาด 1,000 ล. บ่อละ 150 ตัว จำนวน 2 บ่อ ระหว่างการปรับสภาพฝึกให้ปูกินอาหารกึ่งสำเร็จรูป ยี่ห้อ คาร์กิลล์ ชริม พีด (โปรตีนไม่น้อยกว่า 40%) โดยให้ 5% ของน้ำหนักตัว วันละ 2 ครั้ง (08.00 น. และ 16.00 น.) เป็นระยะเวลา 7 วัน (มีการดำเนินการเลี้ยงสัตว์ตามจรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ สภาวิจัยแห่งชาติ เลขที่ใบอนุญาตการใช้สัตว์ U1-03457-2559 และการดำเนินงานผ่านการรับรองและพิจารณาอนุมัติให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลองเพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี เลขที่ใบรับรองการอนุมัติ IACUC PBRU 131162 002)

การเตรียมอาหารทดลอง

น้ำนิ่งปูที่ใช้ในการทดลอง ได้จากน้ำนิ่งปูจากแพรวน้ำนิ่งปู อ.บ้านแหลม จ.เพชรบุรี โดยการนำปูมาสดจำนวน 20 กก. ใส่ในกระชอนหนึ่ง จากนั้นเติมน้ำสะอาด 12 ล. นึ่งปูมาจนสุกใช้เวลาประมาณ 20 นาที นำปูมาที่นึ่งสุกแล้วออกจากกระชอน และนำปูมาสดชุดใหม่นึ่งต่ออีก 20 นาที โดยการนึ่งครั้งที่ 2 จะไม่มีการเติมน้ำสะอาดแต่จะใช้น้ำนิ่งปูที่ได้จากการนึ่งครั้งแรกนึ่งซ้ำอีก 1 รอบ เมื่อเสร็จสิ้นการนึ่งปูมา 2 รอบ จะได้น้ำนิ่งปูมาปริมาตร 10 ล. จากนั้นนำน้ำนิ่งปูมาต้มต่อที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลาประมาณ 7-8 ชม. จะได้น้ำนิ่งปูมาปริมาตร 3 ล. วัดค่าความเข้มข้นของสารละลายได้ 31% โดยเครื่องมือ Refractometer รุ่น MA 871 (Milwaukee Electric Kft., Hungary)

นำน้ำนิ่งปูมาที่ได้สเปรย์ลงบนอาหารกึ่งสำเร็จรูป ยี่ห้อ คาร์กิลล์ ชริม พีด (โปรตีนไม่น้อยกว่า 40%) ในชุดการทดลองที่ 2 (T2), 3 (T3), 4 (T4) และ 5 (T5) ที่ระดับ 2, 4, 6 และ 8 มล./อาหาร 100 ก. ตามลำดับ ในการทดลองแต่ละครั้ง จะทำการสเปรย์น้ำนิ่งปูมาลงบนอาหารทดลองในแต่ละชุดการทดลอง โดยสเปรย์ในกล่องพลาสติกใส ขนาด 6x11x5 ซม. เขย่าให้อาหารกึ่งและน้ำนิ่งปูมาเข้ากันดี จากนั้นผึ่งลมให้แห้งประมาณ 30 นาที จึงนำไปทดลอง

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารเสริมน้ำนิ่งปูมา

อาหารในชุดการทดลองที่ 2 (T2), 3 (T3), 4 (T4) และ 5 (T5) นำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ตามวิธี AOAC (2016) ได้แก่ วิเคราะห์ความชื้น ด้วยเครื่อง Hot Air Oven ยี่ห้อ Binder รุ่น ED 115 วิเคราะห์โปรตีน ด้วยเครื่อง Digestion unit ยี่ห้อ Gerhardt รุ่น KB/KBL with TZ Control และเครื่อง Distillation unit ยี่ห้อ Gerhardt รุ่น Vapodest 45S วิเคราะห์ไขมัน ด้วยเครื่อง Soxtec 8000 Extraction Unit ยี่ห้อ FOSS และวิเคราะห์เถ้า ตามวิธี AOAC (2019) ด้วยเครื่อง Muffle furnace ยี่ห้อ Cabolite รุ่น ELE 11/14/201 และวิเคราะห์กรดอะมิโน ตามวิธี Herbert et al. (2000) ด้วยเครื่องมือ HPLC ยี่ห้อ Agilent รุ่น HP 1260

ระบบการทดลอง

น้ำที่ใช้ในการทดลอง เป็นน้ำทะเลธรรมชาติ ความเค็มประมาณ 30 ppt ฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน 30 ppm จากนั้นให้ออกซิเจนเพื่อสลายคลอรีนในน้ำเป็นเวลา 7 วัน จึงนำน้ำทะเลที่ได้ไปใช้ในการทดลอง

การทดสอบระดับการเสริมน้ำนิ่งปูม้าที่เหมาะสมในการเป็นสารดึงดูดการกินอาหารของปูม้า

การทดสอบนี้ดัดแปลงจากวิธีการของ Suresh et al. (2011) และพิเชต และคณะ (2561) ทดลองในกล่องพลาสติกใสสี่เหลี่ยมจำนวน 15 กล่อง (5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ) ใช้แผ่นพลาสติกลูกฟูก จำนวน 2 แผ่น กั้นแบ่งกล่องเป็น 3 ส่วน โดยแผ่นที่ 1 กั้นระหว่างส่วนที่ 1 กับส่วนที่ 2 เป็นแผ่นทึบปกติ และสามารถดึงออกได้ และแผ่นที่ 2 กั้นระหว่างส่วนที่ 2 กับส่วนที่ 3 จะยึดติดอยู่กับกล่อง โดยส่วนที่ 3 ใช้แผ่นพลาสติกลูกฟูก จำนวน 2 แผ่น แบ่งย่อยเป็น 3 ช่อง เท่าๆ กัน และทำการเจาะช่อง ขนาด 5X5 ซม. ไว้กึ่งกลางแต่ละช่อง เพื่อไว้สำหรับให้ปูม้าเดินเข้าไปหาอาหารในช่องนั้น ๆ (Figure 1(a) and (b)) แต่ละกล่องบรรจุน้ำทะเล 15 ล. และใส่หัวทรายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 ซม. เพื่อให้อากาศ กล่องละ 2 หัว

ทำการสุ่มปูม้า 75 ตัว (ซ้าละ 5 ตัว) ปล่อยลงในพื้นที่ส่วนที่ 1 ปล่อยให้ปูม้าปรับตัวให้คุ้นเคยกับกล่องทดลองประมาณ 1 ชม. จากนั้นใส่อาหารทดลองที่มีการเสริมน้ำนิ่งปูม้า 5 ระดับ ได้แก่ 0, 2, 4, 6 และ 8 มล./อาหาร 100 ก. ชุดการทดลองละ 3 กล่อง ๆ ละ 1 กรัม ลงในช่องใดช่องหนึ่งเพียงช่องเดียวของส่วนที่ 3 ของกล่อง (Figure 1 (c)) หลังจากนั้น 10 นาที ดึงแผ่นพลาสติกลูกฟูกที่กั้นระหว่างส่วนที่ 1 กับส่วนที่ 2 ออก เพื่อให้ปูม้าเข้าหาอาหารในส่วนที่ 3 ที่ได้ใส่อาหารทดลองไว้ เริ่มนับจำนวนปูม้าที่เข้ากินอาหารที่เวลา 1, 2, 5, 10, 15 และ 20 นาที ตามลำดับ ทำการทดลองวันละ 2 ครั้ง เวลา 08.00 น. และ 16.00 น. เป็นระยะเวลา 10 วัน ในแต่ละวันแต่ละชุดการทดลองจะได้ค่าทดลอง 6 ค่า (3 ซ้ำ 2 เวลา) นำค่าดังกล่าวมาหาค่าเฉลี่ยสำหรับการใช้ในการทดสอบทางสถิติ โดยหลังการทดลองแต่ละครั้งจะเปลี่ยนถ่ายน้ำในแต่ละกล่องทดลอง 100% และปูม้าที่ทดลองเสร็จในแต่ละครั้งจะนำออกจากกล่องทดลอง และมาพักรวมไว้ในบ่อไฟเบอร์ขนาด 500 ล. และให้อาหารจนปูม้าอิ่ม วันละ 1 ครั้ง เวลา 19.00 น. ก่อนเริ่มการทดลองในวันถัดไป โดยแต่ละครั้งของการทดลองจะสุ่มปูม้าที่มีขนาดใกล้เคียงกันมาทำการทดลอง การคำนวณร้อยละของจำนวนปูม้าที่เข้ากินอาหารในเวลาต่าง ๆ (ปิยารมณ และคณะ, 2561) ตามสูตรดังนี้

$$\text{ร้อยละของจำนวนปูม้าที่เข้ากินอาหาร} = \frac{\text{จำนวนปูม้าที่อยู่ในช่องใส่อาหาร (ตัว)}}{\text{จำนวนปูม้าทั้งหมดในกล่อง}} \times 100$$

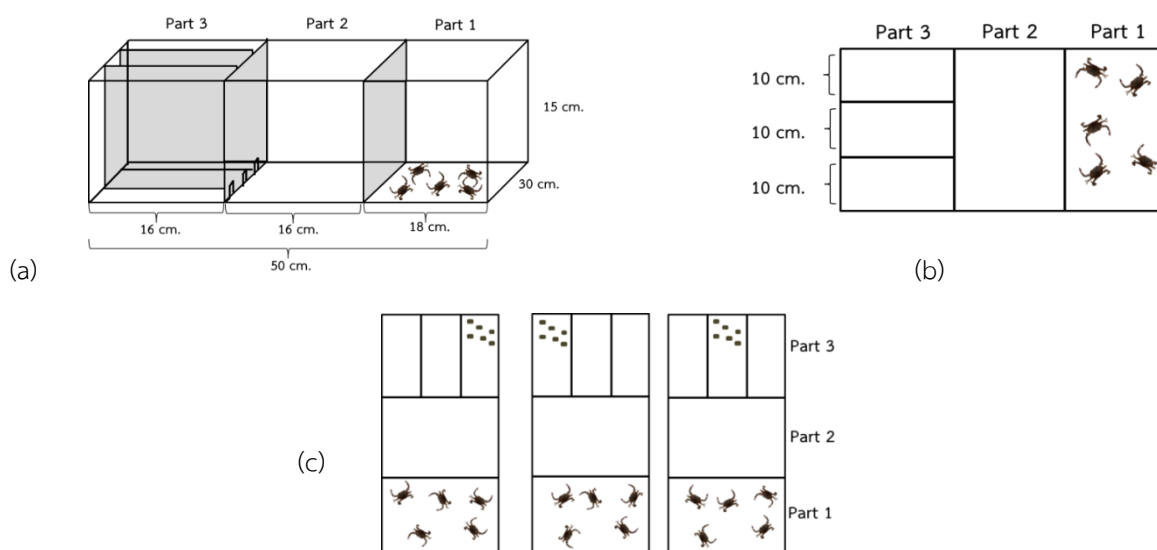


Figure 1 box tank used for evaluation of feeds for attractability; side view (a); top view (b) and 1 set of experiments with 3 replications (c)

การทดสอบระดับการเสริมน้ำนึ่งปูม้าที่เหมาะสมต่อความอยากกินอาหารของปูม้าจากปริมาณอาหารที่กิน

การทดสอบนี้ดัดแปลงจากวิธีการของ Suresh et al. (2011) และพิเชต และคณะ (2561) ทดลองในกล่องพลาสติกใสสี่เหลี่ยม ขนาด 30X50X15 ซม. จำนวน 15 กล่อง (5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ) แต่ละกล่องบรรจุน้ำทะเล 15 ล. และใส่หัวทรายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 ซม. เพื่อให้อากาศ กล่องละ 2 หัว ในการทดลองทำการสูบลมปูม้าปล่อยลงในกล่องทดลอง ๆ ละ 5 ตัว ปล่อยให้ปูม้าปรับตัวให้คุ้นเคยกับกล่องทดลองประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นใส่อาหารทดลองที่มีการเสริมน้ำนึ่งปูม้า 5 ระดับ ได้แก่ 0, 2, 4, 6 และ 8 มล./อาหาร 100 ก. ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 กล่อง ๆ ละ 2 กรัม โดยให้ปูม้ากินอาหารเป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นนำปูม้าออกจากกล่อง และดูดอาหารที่เหลือนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C จนแห้ง ทำการทดลองวันละ 2 ครั้ง เวลา 08.00 น. และ 16.00 น. เป็นระยะเวลา 10 วัน ในแต่ละวันแต่ละชุดการทดลองจะได้ค่าปริมาณอาหารที่ปูม้ากิน 6 ค่า (3 ซ้ำ 2 เวลา) นำค่าดังกล่าวมาหาค่าเฉลี่ยสำหรับการใช้ในการทดสอบทางสถิติ และหลังการทดลองแต่ละครั้งจะดำเนินการเปลี่ยนถ่ายน้ำและให้อาหารปูม้าเช่นเดียวกับการทดสอบการดึงดูดการกินอาหาร การคำนวณปริมาณอาหารที่ปูม้ากิน (ปิยารมณ และคณะ, 2561) ตามสูตรดังนี้

$$\text{ปริมาณอาหารที่ปูม้ากิน (มก.อาหาร/น้ำหนักปูม้า 1 ก.)} = \frac{\text{น้ำหนักรวมของอาหารที่ปูม้าทดลองกิน (ก.)} \times 1,000}{\text{น้ำหนักรวมของปูม้าทดลอง (ก.)}}$$

การทดสอบระดับการเสริมน้ำนึ่งปูม้าที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปูม้า

ทดลองในถังพลาสติกแบบกลมสีดำ เบอร์ 004/80 จำนวน 15 ถัง (5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ) แต่ละถังบรรจุน้ำทะเล 60 ล. ใส่อุปกรณ์กรองน้ำสำเร็จรูป Xinyou XY 2011 ถังละ 1 ชุด ใส่หัวทรายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 ซม. เพื่อให้อากาศถังละ 2 หัว และท่อ PVC ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 นิ้ว ยาว 20 ซม. ถังละ 5 อัน (Figure 2) เพื่อใช้เป็นแหล่งหลบซ่อนให้แก่ปูม้า ในการทดลองทำการสูบลมปูม้าปล่อยลงในถังพลาสติกทดลอง ที่ความหนาแน่นซ้ำละ 5 ตัว ให้อาหารทดลองที่มีการเสริมน้ำนึ่งปูม้า 5 ระดับ ได้แก่ 0, 2, 4, 6 และ 8 มล./อาหาร 100 ก. 5% ของน้ำหนักตัว วันละ 2 ครั้ง (08.00 น. และ 16.00 น.) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ตลอดระยะเวลาในการทดลองมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50% และล้างทำความสะอาดอุปกรณ์กรองน้ำด้วยน้ำทะเล ทุก ๆ 7 วัน

ระหว่างการทดลองในแต่ละวันทำการจดบันทึกจำนวนปูม้าที่ตาย และการลอกคราบ เพื่อวิเคราะห์อัตราการรอดตาย (survival rate) และความถี่ในการลอกคราบ (molting frequency) ชั่งน้ำหนักปูม้า (กรัม) ทุก ๆ 7 วัน นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณค่าการเจริญเติบโต ได้แก่ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain) (มนทกานติ และคณะ, 2555) ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ได้แก่ ปริมาณอาหารที่ปูม้ากิน (total feed intake, TFI) (ปิยารมณ และคณะ, 2561) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) (โชคชัย, 2554)

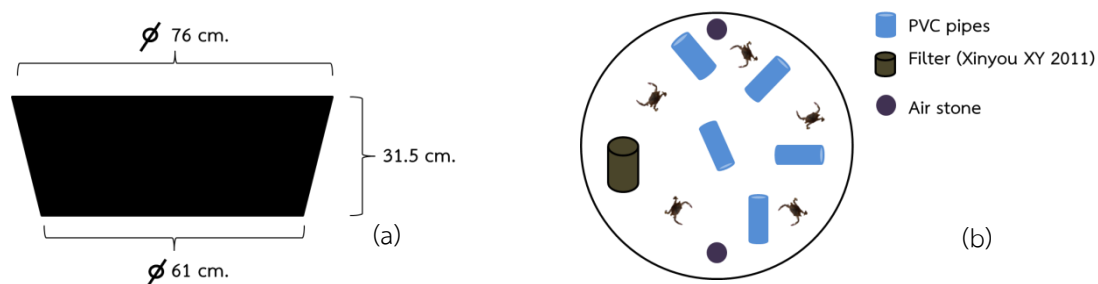


Figure 2 Experimental Set Pattern (1 replication); side view (a) and top view (b)

การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

ด้านคุณภาพน้ำ เก็บน้ำตัวอย่างจากการทดสอบระดับการเสริมน้ำนึ่งปูม้าที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปูม้า ในแต่ละชุดการทดลอง ทุก ๆ 7 วัน ตลอดระยะเวลาทดลอง ตรวจและวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ได้แก่ ความเป็นกรดต่างของน้ำ (pH) และความเค็มของน้ำ (salinity) ด้วยเครื่อง Salinity Pen Meter รุ่น ST20s ยี่ห้อ Ohaus (Shanghai, China) ความเป็นด่างของน้ำ (alkalinity) วิเคราะห์โดยวิธี Potentiometric titration method ตามวิธีของ APHA, AWWA and WEF (1998), แอมโมเนีย (total ammonia) วิเคราะห์โดยวิธี Modified indophenol blue ตามวิธีของ Sasaki and Sawada (1980), ไนไตรท์ (nitrite) วิเคราะห์โดยวิธี Diazotization method ตามวิธีของ Strickland and Parsons (1972) แคลเซียมในน้ำ (Ca) โดยชุดทดสอบแคลเซียมยี่ห้อ Salifert (Duiven, Netherlands) และแมกนีเซียมในน้ำ (Mg) โดยชุดทดสอบแมกนีเซียมยี่ห้อ Salifert (Duiven, Netherlands)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดสอบระดับการเสริมน้ำนึ่งปูม้าที่เหมาะสมในการเป็นสารดึงดูดการกินอาหารของปูม้า และการทดสอบระดับการเสริมน้ำนึ่งปูม้าที่เหมาะสมต่อความอยากกินอาหารของปูม้าจากปริมาณอาหารที่กิน วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) จากการวางแผนแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design: RCBD) โดยกำหนดให้จำนวนวันเป็นบล็อก (ซ้ำ) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีของ Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม R เวอร์ชัน 8.17

การทดสอบระดับการเสริมน้ำนึ่งปูม้าที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปูม้า วิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (One-way analysis of variance: ANOVA) จากการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design: CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีของ Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม R เวอร์ชัน 8.17

ผลการศึกษา

องค์ประกอบทางเคมีและชนิดของกรดอะมิโนที่พบในอาหารเสริมน้ำนึ่งปูม้า

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่เสริมน้ำนึ่งปูม้าพบว่า อาหารที่เสริมน้ำนึ่งปูม้า 8 มล./อาหาร 100 ก. มีความชื้นของอาหาร $13.10 \pm 0.11\%$ มากกว่าชุดการทดลองอื่น ($P < 0.05$) ด้านโปรตีน อาหารที่เสริมน้ำนึ่งปูม้า 6 และ 8 มล./อาหาร 100 ก. มีโปรตีน 43.21 ± 0.06 และ $43.46 \pm 0.03\%$ ตามลำดับ มากกว่าชุดการทดลองอื่น ($P < 0.05$) แต่อาหารที่เสริมน้ำนึ่งปูม้า 2 และ 4 มล./อาหาร 100 ก. มีเปอร์เซ็นต์ของโปรตีนไม่แตกต่างกันทางสถิติกับอาหารชุดควบคุม ส่วนเปอร์เซ็นต์ไขมันและเถ้า ทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (Table 1)

การวิเคราะห์ชนิดของกรดอะมิโนที่พบในอาหารเสริมน้ำนึ่งปูม้าพบว่า อาหารที่เสริมน้ำนึ่งปูม้าทุกชุดการทดลองพบกรดอะมิโน 18 ชนิด โดยอาหารที่เสริมน้ำนึ่งปูม้า 8 มล./อาหาร 100 ก. จะมีปริมาณกรดอะมิโนทุกชนิดมากที่สุด และอาหารที่เสริมน้ำนึ่งปูม้า 2 มล./อาหาร 100 ก. มีปริมาณกรดอะมิโนทุกชนิดน้อยที่สุด ($P < 0.05$) (Table 2)

	blue swimming crab steamed water	level of blue swimming crab steamed water supplemental (mL/100 g feed)				
		0 (T1)	2 (T2)	4 (T3)	6 (T4)	8 (T5)
Moisture (%)	71.88±0.07	7.33±0.06 ^c	8.87±0.01 ^c	10.51±0.13 ^b	11.24±0.02 ^b	13.10±0.11 ^a
Protein (%)	13.34±0.11	42.37±0.27 ^b	42.54±0.11 ^b	42.88±0.08 ^b	43.21±0.06 ^a	43.46±0.03 ^a
Lipid (%)	0.08±0.09	8.04±0.06 ^a	8.04±0.09 ^a	8.04±0.11 ^a	8.04±0.08 ^a	8.05±0.07 ^a
Ash (%)	11.75±0.09	9.22±0.01 ^a	9.48±0.07 ^a	9.67±0.09 ^a	9.93±0.09 ^a	10.14±0.10 ^a

Table 2 Amino acids profile in diets for blue swimming crab (*Portunus pelagicus*) (mean±SD)

Free amino acids (mg/100 g)	level of blue swimming crab steamed water supplemental (mL/100 g feed)			
	2 (T2)	4 (T3)	6 (T4)	8 (T5)
Alanine	5.78±0.02 ^d	10.76±0.02 ^c	18.34±0.06 ^b	23.72±0.02 ^a
Arginine	33.14±0.05 ^d	65.48±0.06 ^c	99.47±0.07 ^b	133.55±0.05 ^a
Aspartic acid	21.90±0.03 ^d	42.98±0.03 ^c	65.71±0.01 ^b	86.59±0.03 ^a
Cystine	4.54±0.02 ^d	9.87±0.01 ^c	13.65±0.02 ^b	19.18±0.02 ^a
Glutamic acid	31.46±0.02 ^d	62.94±0.02 ^c	94.37±0.03 ^b	124.94±0.02 ^a
Glycine	32.02±0.03 ^d	66.07±0.05 ^c	98.05±0.04 ^b	131.09±0.03 ^a
Proline	9.42±0.03 ^d	17.82±0.03 ^c	28.27±0.03 ^b	36.67±0.01 ^a
Serine	6.64±0.02 ^d	14.28±0.03 ^c	19.93±0.01 ^b	26.56±0.03 ^a
Tyrosine	14.40±0.01 ^d	27.81±0.01 ^c	43.25±0.05 ^b	59.67±0.05 ^a
Histidine	4.60±0.04 ^d	9.19±0.04 ^c	13.80±0.05 ^b	19.39±0.06 ^a
Isoleucine	6.27±0.06 ^d	12.74±0.07 ^c	19.85±0.03 ^b	26.08±0.04 ^a
Leucine	11.83±0.03 ^d	23.77±0.03 ^c	35.48±0.02 ^b	48.31±0.04 ^a
Lysine	15.91±0.02 ^d	31.85±0.02 ^c	47.72±0.02 ^b	63.67±0.01 ^a
Methionine	4.48±0.11 ^d	7.96±0.08 ^c	13.44±0.09 ^b	17.97±0.08 ^a
Phenylalanine	11.85±0.08 ^d	23.73±0.06 ^c	35.59±0.04 ^b	47.57±0.06 ^a
Threonine	8.90±0.02 ^d	17.81±0.02 ^c	26.77±0.02 ^b	34.61±0.04 ^a
Tryptophan	1.68±0.01 ^d	3.39±0.07 ^c	5.07±0.04 ^b	6.81±0.05 ^a
Varine	9.98±0.08 ^d	19.88±0.04 ^c	29.85±0.03 ^b	39.97±0.04 ^a

การทดสอบระดับการเสริมน้ำนึ่งปุ๋ยที่เหมาะสมในการเป็นสารดึงดูดการกินอาหารของปูม้า

การเสริมน้ำนิ่งปูม้าที่ระดับ 2 มล./อาหาร 100 ก. มีร้อยละของจำนวนปูม้าที่เข้ากินอาหารมากกว่าชุดการทดลองอื่น ($P<0.05$) และร้อยละของจำนวนปูม้าที่เข้ากินอาหาร ณ เวลา 1 และ 2 นาที เท่ากับ 63.33 ± 7.20 และ 68.67 ± 15.41 ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองอื่น ($P<0.05$) รองลงมาได้แก่ การเสริมน้ำนิ่งปูม้าในอาหารทดลองที่ระดับ 4 มล./อาหาร 100 ก.

ณ เวลา 1 และ 2 นาที ($P>0.05$) มีร้อยละของจำนวนปูม้าที่เข้ากินอาหาร เท่ากับ 56.00 ± 4.66 และ 55.33 ± 5.49 ตามลำดับ นอกจากนี้การเสริมน้ำนิ่งปูม้าที่ระดับ 2 และ 4 มล./อาหาร 100 ก. ณ เวลา 5, 10, 15 และ 20 นาที ร้อยละของจำนวนปูม้าที่เข้ากินอาหาร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งมีร้อยละของจำนวนปูม้าที่เข้ากินอาหารมากกว่าชุดการทดลองอื่น ($P<0.05$) (Table 3)

Table 3 Percentage of blue swimming crab approaching test diets containing different level of blue swimming crab steamed water at different times (mean $\pm$ SD)

Diet (ml/100 g feed)	Percentage of blue swimming crab approached test diets (minute)					
	1	2	5	10	15	20
0 (T1)	30.67 ± 25.57^{cB}	30.67 ± 25.57^{cB}	9.33 ± 19.68^{cB}	8.67 ± 11.35^{cC}	4.00 ± 7.17^{cC}	9.33 ± 11.84^{cB}
2 (T2)	63.33 ± 7.20^{aA}	68.67 ± 15.41^{aA}	59.33 ± 15.54^{aA}	56.00 ± 13.41^{aA}	49.33 ± 11.42^{aA}	46.00 ± 11.95^{aA}
4 (T3)	56.00 ± 4.66^{bB}	55.33 ± 5.49^{bB}	49.33 ± 11.84^{bA}	46.00 ± 7.34^{bA}	46.67 ± 7.03^{bA}	43.33 ± 10.54^{bA}
6 (T4)	17.33 ± 15.78^{cC}	17.33 ± 15.78^{cC}	7.33 ± 7.98^{cC}	20.67 ± 18.71^{cB}	15.33 ± 17.51^{cB}	4.00 ± 7.17^{cC}
8 (T5)	13.33 ± 14.05^{cC}	13.33 ± 14.05^{cC}	5.33 ± 9.84^{cC}	14.67 ± 15.01^{cB}	12.00 ± 13.98^{cB}	9.33 ± 17.55^{cB}

a, b, c Mean in the same row with different letters are significantly different ($P<0.05$)

A, B, C Mean in the same column with different capital letter are significantly different ($P<0.05$)

การทดสอบระดับการเสริมน้ำนิ่งปูม้าที่เหมาะสมต่อความอยากกินอาหารของปูม้าจากปริมาณอาหารที่กิน

ปริมาณอาหารที่ปูม้ากินจากการเลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมน้ำนิ่งปูม้าที่ระดับ 2 และ 4 มล./อาหาร 100 ก. ($P>0.05$) เท่ากับ 69.34 ± 7.04 และ 66.50 ± 8.50 มก.อาหาร/น้ำหนักปูม้า 1 ก. ตามลำดับ ซึ่งเป็นปริมาณอาหารที่ปูม้ากินที่สูงกว่าชุดการทดลองอื่น ($P<0.05$) (Figure 3)

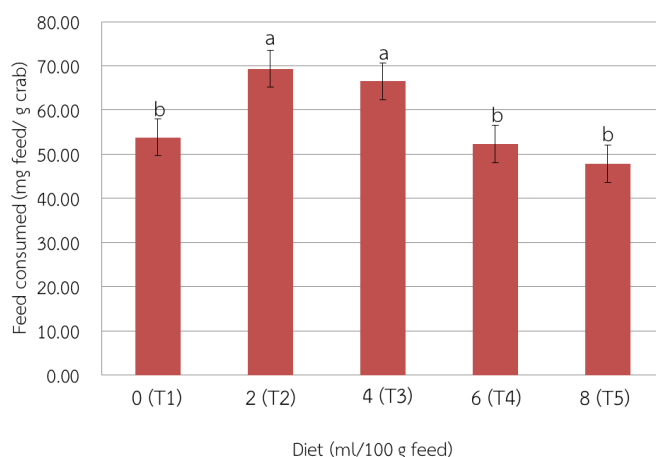


Figure 3 Feed consumed (mg feed/ g crab) in 30 minute of blue swimming crab (*Portunus pelagicus*).

Different lower case letters above each bar indicate a significant difference ($P<0.05$). Error bars indicate (mean $\pm$ SD)

การทดสอบระดับการเสริมใช้น้ำปูม้าที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปูม้า

จากการทดลองพบว่า ปูม้าที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมใช้น้ำปูม้าที่ระดับ 2 และ 4 มล./อาหาร 100 ก. ($P>0.05$) มีการเจริญเติบโตทางด้านน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น เท่ากับ $425.54\pm20.68\%$ และ $378.34\pm45.36\%$ ตามลำดับ ปริมาณอาหารที่ปูม้ากิน เท่ากับ 0.32 ± 0.04 และ 0.32 ± 0.03 ก./ตัว ตามลำดับ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ เท่ากับ 2.11 ± 0.13 และ 2.18 ± 0.31 ตามลำดับ ความถี่ในการลอกคราบ เท่ากับ 2.07 ± 0.23 และ 1.93 ± 0.23 ครั้ง/ตัว และอัตราการรอดตาย เท่ากับ $46.67\pm11.55\%$ ซึ่งทุกด้านดีกว่าชุดการทดลองอื่น ($P<0.05$) (Table 4)

Table 4 Growth, molting frequency and survival rate of blue swimming crab (*Portunus pelagicus*) fed with diets containing different level of blue swimming crab steamed water for 8 weeks (mean $\pm$ SD)

The growth, molting frequency and survival rate	level of blue swimming crab steamed water supplemental (ml/100 g feed)				
	0 (T1)	2 (T2)	4 (T3)	6 (T4)	8 (T5)
Initial weight (g/crab)	2.11 $\pm$ 0.09 ^a	2.11 $\pm$ 0.09 ^a	2.11 $\pm$ 0.09 ^a	2.11 $\pm$ 0.09 ^a	2.11 $\pm$ 0.09 ^a
Final weight (g/crab)	6.83 $\pm$ 1.78 ^c	11.37 $\pm$ 0.88 ^a	10.66 $\pm$ 0.59 ^a	7.90 $\pm$ 3.10 ^b	5.93 $\pm$ 5.33 ^c
Weight gain (%)	267.78 $\pm$ 117.39 ^b	425.54 $\pm$ 20.68 ^a	378.34 $\pm$ 45.36 ^a	175.32 $\pm$ 57.12 ^c	175.00 $\pm$ 151.65 ^c
Total feed intake (g/crab)	0.22 $\pm$ 0.02 ^c	0.32 $\pm$ 0.04 ^a	0.32 $\pm$ 0.03 ^a	0.29 $\pm$ 0.01 ^b	0.26 $\pm$ 0.03 ^b
Feed conversion ratio	3.03 $\pm$ 1.42 ^b	2.11 $\pm$ 0.13 ^c	2.18 $\pm$ 0.31 ^c	3.77 $\pm$ 1.24 ^a	2.81 $\pm$ 0.23 ^b
Molting frequency	1.27 $\pm$ 0.12 ^b	2.07 $\pm$ 0.23 ^a	1.93 $\pm$ 0.23 ^a	1.33 $\pm$ 0.12 ^b	1.20 $\pm$ 0.60 ^c
Survival rate (%)	26.67 $\pm$ 11.55 ^b	46.67 $\pm$ 11.55 ^a	46.67 $\pm$ 11.55 ^a	26.67 $\pm$ 11.55 ^b	13.33 $\pm$ 11.55 ^c

a, b, c Mean in the same row with different letters are significantly different ($P<0.05$)

คุณภาพน้ำ

คุณภาพน้ำระหว่างการทดลองของทุกชุดการทดลองมีค่าอยู่ในเกณฑ์ดี ($P>0.05$) โดยค่าความเค็มของน้ำอยู่ระหว่าง 31.00 $\pm$ 3.15 – 31.75 $\pm$ 4.17 ppt ค่าความเป็นกรดต่างของน้ำอยู่ระหว่าง 7.98 $\pm$ 0.08 – 8.06 $\pm$ 0.05 ค่าความเป็นด่างของน้ำอยู่ระหว่าง 88.07 $\pm$ 4.03 – 90.46 $\pm$ 10.28 มก./ล. แอมโมเนียของน้ำอยู่ระหว่าง 0.39 $\pm$ 0.65 – 0.51 $\pm$ 0.85 มก./ล. ไนโตรท์ของน้ำอยู่ระหว่าง 0.63 $\pm$ 0.17 – 0.66 $\pm$ 0.09 มก./ล. แคลเซียมในน้ำอยู่ระหว่าง 421.38 $\pm$ 0.79 – 422.35 $\pm$ 1.44 ppm และแมกนีเซียมในน้ำอยู่ระหว่าง 1281.49 $\pm$ 2.03 – 1282.33 $\pm$ 0.73 ppm (Table 5)

Table 5 Average water quality throughout the experiment (mean±SD)

Water quality	Diet (level of blue swimming crab steamed water supplemental; mL/100 g feed)				
	0	2	4	6	8
Salinity (ppt)	31.75±4.17 ^a	31.00±3.15 ^a	31.42±3.12 ^a	31.42±2.99 ^a	31.50±2.67 ^a
pH	8.06±0.05 ^a	8.02±0.06 ^a	7.98±0.08 ^a	8.00±0.07 ^a	8.04±0.07 ^a
Alkalinity (mg/L)	88.21±6.83 ^a	88.08±6.13 ^a	88.07±4.03 ^a	90.46±10.28 ^a	90.03±3.68 ^a
Total ammonia (mg/L)	0.42±0.67 ^a	0.43±0.71 ^a	0.39±0.65 ^a	0.51±0.85 ^a	0.47±0.80 ^a
Nitrite (mg/L)	0.63±0.17 ^a	0.64±0.18 ^a	0.65±0.13 ^a	0.64±0.11 ^a	0.66±0.09 ^a
Calcium (ppm)	421.38±0.79 ^a	421.54±0.82 ^a	421.83±0.56 ^a	421.83±0.47 ^a	422.35±1.44 ^a
Magnesium (ppm)	1282.25±0.71 ^a	1281.67±0.56 ^a	1281.96±0.65 ^a	1282.33±0.73 ^a	1281.49±2.03 ^a

Data in the same row with different letters are significantly different ($P < 0.05$)

วิจารณ์

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนิ่งปูม้าพบว่า มีโปรตีน $13.34 \pm 0.11\%$ ทำให้อาหารที่มีการเสริมน้ำนิ่งปูม้าที่ระดับ 2, 4, 6 และ 8 มล./อาหาร 100 ก. มีระดับโปรตีนในอาหารเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอาหารที่เสริมน้ำนิ่งปูม้าที่ระดับ 6 และ 8 มล./อาหาร 100 ก. (Table 1) และเมื่อพิจารณาถึงปริมาณกรดอะมิโนพบว่า ปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ เพิ่มขึ้นตามระดับการเสริมน้ำนิ่งปูม้าในอาหารทดลอง โดยเฉพาะอาหารที่เสริมน้ำนิ่งปูม้าที่ระดับ 8 มล./อาหาร 100 ก. (Table 2) แสดงให้เห็นว่าในน้ำนิ่งปูม้าถึงจะมีปริมาณโปรตีนค่อนข้างน้อย แต่มีกรดอะมิโนทั้งที่เป็นกลุ่มกรดอะมิโนจำเป็นและกรดอะมิโนไม่จำเป็น ค่อนข้างครบถ้วน ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้เป็นสารดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหารทางธรรมชาติที่ดี สอดคล้องกับการศึกษาของ Cheryl et al. (2015) พบว่าร่างกายของสัตว์ในกลุ่มปูมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่ครบถ้วน โดยเฉพาะ อาร์จินีน (7.82%) กลูตามีน (10.10%) ไกลซีน (38.80%) และโปรลีน (19.06%) ที่เป็นแหล่งสารดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหารมากกว่าในปลาที่มี 0.94%, 1.71%, 10.24% และ 1.58% ตามลำดับ ทำให้กุ้ง *Fenneropenaeus indicus* และ *Metapenaeus dobsoni* เข้ากินอาหารที่มีปูเป็นส่วนประกอบมากกว่าอาหารที่มีปลาเป็นส่วนประกอบ แต่ทั้งนี้จากการศึกษาถึงระดับที่เหมาะสมของการเสริมน้ำนิ่งปูม้าในอาหารต่อการเป็นสารดึงดูดและกระตุ้นความอยากกินอาหารของปูม้ากลับพบว่า การเสริมน้ำนิ่งปูม้าที่ระดับ 2 มล./อาหาร 100 ก. เป็นระดับการเสริมน้ำนิ่งปูม้าที่ปริมาณน้อยที่สุด แต่มีร้อยละของจำนวนปูม้าที่เข้ากินอาหารมากที่สุด ($P < 0.05$) และมีร้อยละของจำนวนปูม้าที่เข้ากินอาหาร ในนาที่ที่ 1 และ 2 มากกว่าชุดการทดลองอื่น ($P < 0.05$) แต่เมื่อนาที่ที่ 5, 10, 15 และ 20 นาที่ การเสริมน้ำนิ่งปูม้าที่ระดับ 2 และ 4 มล./อาหาร 100 ก. ($P > 0.05$) มีร้อยละของจำนวนปูม้าที่เข้ากินอาหาร มากกว่าชุดการทดลองอื่น ($P < 0.05$) ซึ่งอาหารที่เสริมน้ำนิ่งปูม้าที่ระดับ 2 และ 4 มล./อาหาร 100 ก. มีระดับโปรตีนไม่แตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม แต่อาจเป็นไปได้ว่าการเสริมน้ำนิ่งปูม้าในอาหารที่ระดับ 2 และ 4 มล./อาหาร 100 ก. มีปริมาณกรดอะมิโนอิสระบางชนิด เช่น อะลานีน อาร์จินีน แอสพาทิก กลูตามิก ไกลซีน โปรลีน ไลซีน เมทไทโอนีน (Miguel et al., 2011; Cheryl et al., 2015) อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเป็นสารดึงดูดและกระตุ้นความอยากกินอาหารให้แก่ปูม้า มากกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเสริมน้ำนิ่งปูม้า ทำให้ปูม้าเข้าหาและกินอาหารอย่างต่อเนื่องและสม่ำเสมอ (Table 3) โดยพฤติกรรมการเข้ากินอาหารของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียน จะมีตัวรับรู้สารเคมี (chemoreceptors) ที่มีความไวต่อสารประกอบอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น กรดอินทรีย์ นิวคลีโอไทด์ เปปไทด์สายสั้น เบทาอิน และกรดอะมิโนอิสระ เป็นต้น (Montoya-Martínez et al., 2018; Tantikitti, 2014; พิเชต และคณะ, 2561) โดยเฉพาะกลุ่มกรดอะมิโนอิสระ เช่น เมทไทโอนีน ไลซีน กลูตามิก ไกลซีน แอสพาทิก และอะลานีน จะเป็นตัวที่ช่วยกระตุ้นและดึงดูดการกินอาหารในเรื่องกลิ่น และรส ซึ่งมักจะมีการเสริมในอาหารสำหรับการเลี้ยงกุ้งและสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียน (Montoya-Martínez et al., 2018; Suresh et al., 2011; ปิยารมณ และคณะ, 2561) ถึงแม้ว่าการเสริมน้ำนิ่งปูม้าจะช่วยทำให้อาหารมีปริมาณกรดอะมิโนอิสระบางชนิดที่เป็นสารดึงดูดและกระตุ้นความอยากกินอาหารให้แก่ปูม้า แต่ถ้าเสริมในปริมาณ

มากเกินความต้องการที่ระดับ 6 และ 8 มล./อาหาร 100 ก. กลับพบว่าร้อยละของจำนวนปูม้าที่เข้ากินอาหารไม่มีความแตกต่างกับชุดควบคุม ($P>0.05$) และเมื่อพิจารณาเวลาที่ปูม้าเข้ากินอาหาร ณ วันที่ 1, 2 และ 5 ร้อยละของจำนวนปูม้าที่เข้ากินอาหารน้อยกว่าการเสริมน้ำนึ่งปูม้าในอาหารที่ระดับ 2 และ 4 มล./อาหาร 100 ก. และชุดควบคุม ($P<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของพิเชต และคณะ (2561ข) พบว่าการใช้ตะกอนน้ำนึ่งปลาทุ่นาที่ระดับการเสริม 4% ในอาหาร เป็นระดับที่เหมาะสมในการเป็นสารดึงดูดการกินอาหารให้แก่กุ้งขาว แต่หากมีการใช้ตะกอนน้ำนึ่งปลาทุ่นาในระดับที่เพิ่มขึ้นทำให้ร้อยละของจำนวนกุ้งขาวมีการเข้ากินอาหารลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการบวนการผลิตตะกอนน้ำนึ่งปลาทุ่นาจากในรูปแบบของเหลวมาทำให้เข้มข้นมากขึ้นโดยการระเหยน้ำออก เช่นเดียวกับการเตรียมน้ำนึ่งปูม้าในการศึกษานี้ น่าจะทำความเข้มข้นของเกลือในผลิตภัณฑ์มีปริมาณที่สูงขึ้น จึงทำให้อาหารมีรสเค็มมากขึ้น ส่งผลให้การดึงดูดการกินอาหารและความอยากกินอาหารของสัตว์น้ำลดลง

ส่วนการศึกษาระดับการเสริมน้ำนึ่งปูม้าที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปูม้า พบว่า ปูม้าที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมน้ำนึ่งปูม้าที่ระดับ 2 และ 4 มล./อาหาร 100 ก. ($P>0.05$) ถึงแม้มีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างจากชุดควบคุม และมีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าอาหารที่เสริมน้ำนึ่งปูม้าที่ระดับ 6 และ 8 มล./อาหาร 100 ก. (Table 1) แต่การเจริญเติบโตทางด้านน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ความถี่ในการลอกคราบ อัตราการรอดตาย และปริมาณอาหารที่ปูม้ากิน ตีกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ ($P<0.05$) ทั้งนี้เนื่องมาจากการเสริมน้ำนึ่งปูม้าในอาหารที่ระดับ 2 และ 4 มล./อาหาร 100 ก. เป็นระดับที่มีกรดอะมิโนที่เหมาะสมต่อการเป็นสารดึงดูดในการกินและกระตุ้นความอยากกินอาหารให้แก่ปูม้า (Table 2) ปูม้าจึงตอบสนองต่อการเข้ากินอาหารเร็วและต่อเนื่องมากกว่าชุดการทดลองอื่น สอดคล้องกับการศึกษาของ Bardera et al. (2020) พบว่า การเสริมสารดึงดูดการกินอาหาร 3% ในอาหารให้กับกุ้ง (*Litopenaeus vannamei*) ทำให้กุ้งเข้าหาอาหารอย่างรวดเร็ว ลดเวลาในการค้นหาอาหาร และมีการกินอาหารอย่างต่อเนื่อง ซึ่งการเข้ากินอาหารของสัตว์น้ำหากใช้เวลาตอบสนองที่รวดเร็วและต่อเนื่อง จะทำให้ลดการชะล้างหรือลดการสูญเสียสารอาหารต่าง ๆ ในอาหาร (Cheryl et al., 2015) จึงน่าจะทำให้ปูม้าที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมน้ำนึ่งปูม้าที่ระดับ 2 และ 4 มิลลิกรัม/อาหาร 100 กรัม ได้รับสารอาหารที่เพียงพอและเหมาะสมต่อความต้องการของร่างกาย ส่งผลให้มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่ตีกว่าชุดการทดลองอื่น ($P<0.05$) โดยอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปูม้าที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เหมาะสมมีค่าอยู่ระหว่าง 1.8-4.0 (วาสนา, 2562) และจากผลการศึกษาเกี่ยวกับระดับหรือปริมาณที่เหมาะสมในการเสริมสารดึงดูดและกระตุ้นความอยากกินอาหาร และการเจริญเติบโต ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Suresh et al. (2011) ที่พบว่า การใช้เคป่น (Krill meal) ที่ระดับ 3% เป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเป็นสารดึงดูดการกินอาหาร การกระตุ้นความอยากกินอาหาร และส่งผลให้กุ้ง *Litopenaeus stylirostris* มีการเจริญเติบโตที่ดี ส่วนการศึกษาของ Smith et al. (2005) พบว่า การเสริมโปรตีนปลาไฮโดรไลเสต และกลุ่มกรดอะมิโนหรือเคป่นในอาหาร ที่ระดับ 2% และ 5% ตามลำดับ ส่งผลทำให้เกิดความดึงดูดต่อการตอบสนองในการเข้าหาอาหาร และทำให้กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) มีการเจริญเติบโตที่ดี นอกจากนี้ ชูติมา และไพรัตน์ (2552) พบว่า การใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทุ่นาที่ระดับ 4% เป็นระดับที่ดีที่สุดต่อการกระตุ้นการกินอาหารและประสิทธิภาพการใช้อาหารของกุ้งขาว

ส่วนด้านคุณภาพน้ำของการศึกษาระดับการเสริมน้ำนึ่งปูม้าที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปูม้า ระบบการเลี้ยงมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50% และล้างทำความสะอาดอุปกรณ์กรองน้ำด้วยน้ำทะเล ทุก ๆ 7 วัน จึงทำให้คุณภาพน้ำทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสม โดยเฉพาะปริมาณแคลเซียม และแมกนีเซียม (Table 5) ซึ่งเป็นแร่ธาตุที่สำคัญต่อการลอกคราบของปูม้า โดยค่าที่ตรวจวัดได้อยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงคือ 400-412 ppm และ 1,272-1,294 ppm ตามลำดับ (ศิริภรณ์ และคณะ, 2556)

สรุป

น้ำนึ่งปูม้าเป็นผลิตภัณฑ์เหลือทิ้งจากแปรรูปปูม้า สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์หมุนเวียนเป็นสารธรรมชาติในการเป็นสารดึงดูดและกระตุ้นความอยากกินอาหารให้แก่ปูม้าได้ โดยเสริมน้ำนึ่งปูม้าในอาหารที่ระดับ 2 มล./อาหาร 100 ก. เป็นระดับที่เหมาะสมในการสเปรย์ลงบนอาหารกุ้งสำเร็จรูปเพื่อเป็นสารดึงดูดและกระตุ้นความอยากกินอาหารของปูม้า ทำให้ปูม้ามีการเข้าหาอาหารรวดเร็ว มีความอยากกินอาหารทันทีและต่อเนื่อง ส่งผลให้ปูม้าได้รับสารอาหารเต็มที่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย

มีการเจริญเติบโตที่ดี และมีอัตราการกินกันเองลดลง จึงมีอัตราการรอดตายที่ดี แต่ทั้งนี้การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับน้ำนิ่งปูม่ายังมีน้อย อาจต้องมีการศึกษาเกี่ยวกับขั้นตอนการผลิต และการควบคุมคุณภาพน้ำนิ่งปูม่ายังเพิ่มเติม และควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับปริมาณ การใช้น้ำนิ่งปูม่ายี่เหมาะสมในการทดแทนโปรตีนหลักบางส่วนและช่วยในการเป็นสารดึงดูดและกระตุ้นความอยากกินอาหารให้แก่ปูม้า เพื่อเป็นการช่วยลดต้นทุนของการผลิตอาหารเลี้ยงปูม้าให้แก่เกษตรกรต่อไป

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณในการเผยแพร่ผลงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี และขอขอบคุณเจ้าของกิจการแพรรี่น้ำนิ่งปูม้าในพื้นที่จังหวัดเพชรบุรีที่ให้ความอนุเคราะห์น้ำนิ่งปูม้าและวิธีการทำน้ำนิ่งปูม้า ที่เป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- ชุตินา ตันติกิตติ และไพรัตน์ โสภโณคร. 2552. การใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเพื่อเป็นสารกระตุ้นการกินอาหารและการแทนที่ปลาปนด้วยไฮโมโกลบินปนที่ระดับต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*). แหล่งข้อมูล: <https://kb.psu.ac.th/psukb/handle/2010/7259>. ค้นเมื่อ 3 มกราคม 2565.
- บุญรัตน์ ประทุมชาติ. 2559. การพัฒนาอาหารเม็ดสำเร็จรูปเพื่อเลี้ยงปูม้า (*Portunus pelagicus*) โดยพิจารณาจากขนาดและระดับโปรตีน. แหล่งข้อมูล: http://dspace.lib.buu.ac.th/xmlui/bitstream/handle/1234567890/2037/2563_045.pdf?sequence=1&isAllowed=y. ค้นเมื่อ 1 กุมภาพันธ์ 2564.
- ปิยารมณ พวงซ้อ, ธนิกานต์ บัวทอง, จีรรัตน์ เกื้อแก้ว และสกนธ์ แสงประดับ. 2561. ผลของการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเศษทิ้งกุ้งเพื่อเป็นสารดึงดูดการกินสำหรับการแทนที่ปลาปนด้วยวัตถุดิบจากพืชในอาหารกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798). สารวิชาการประมง. 1(1): 55-58.
- พิเชต พลายเพชร, ธนิกานต์ บัวทอง และจิราพร พูฒิ. 2561ก. การใช้น้ำนิ่งปลาทูน่าเข้มข้นเป็นสารดึงดูดการกินอาหารที่ใช้พืชเป็นแหล่งโปรตีนหลักสำหรับกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798). สารวิชาการประมง. 1(1): 37-42.
- พิเชต พลายเพชร, ปิยารมณ คงขิม, ธนิกานต์ บัวทอง และสกนธ์ แสงประดับ. 2561ข. การใช้ตะกอนน้ำนิ่งปลาทูน่าเป็นสารดึงดูดการกินอาหารที่ใช้พืชเป็นแหล่งโปรตีนหลักสำหรับปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch, 1790) และกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931). สารวิชาการประมง. 1(1): 43-48.
- มนทกานติ ท้ามตัน, สุพิศ ทองรอด และสิริพร ลือชัยชัยกุล. 2551. ระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารต่อการเจริญเติบโต ของลูกปูม้า (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1758) ถึงระยะ 10 กรัม. แหล่งข้อมูล: https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20170301080130_file.pdf. ค้นเมื่อ 2 ธันวาคม 2564.
- มนทกานติ ท้ามตัน, สุพิศ ทองรอด, จีรรัตน์ เกื้อแก้ว และสิริพร ลือชัยชัยกุล. 2555. การตอบสนองของลูกปูม้า (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1758) ต่อแร่ธาตุรวมระดับสูงในอาหาร. แหล่งข้อมูล: https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20170301080401_file.pdf. ค้นเมื่อ 19 มกราคม 2565.
- วาสนา อารกัรรัตน์, วุฒิชัย อ่อนเอี่ยม และสุทิน สมบูรณ์. 2562. การพัฒนาอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับการเลี้ยงปูม้า (*Portunus pelagicus*). น. 347-355. ใน: การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 57 ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เรื่องชุมชนโลกาภิวัตน์สู่สังคมไทยยุคดิจิทัล 29 มกราคม – 1 กุมภาพันธ์ 2562. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วัฒนา วัฒนกุล, อุไรวรรณ วัฒนกุล และเจษฎา อีสหะ. 2554. ระดับที่เหมาะสมของน้ำนิ่งปลาและกากเนื้อเมล็ดในปาล์มน้ำมันในอาหารกุ้งขาวแวนนาไม. แหล่งข้อมูล: [https://fishtech.rmuts.ac.th/fishtech/sites/default/files/files/2557/SAR56/FISHTECH%204.0.2-03\(2\).pdf](https://fishtech.rmuts.ac.th/fishtech/sites/default/files/files/2557/SAR56/FISHTECH%204.0.2-03(2).pdf). ค้นเมื่อ 2 ธันวาคม 2564.

- วัฒนา วัฒนกุล, อุไรวรรณ วัฒนกุล และเจษฎา อีสหะ. 2556. ผลของการเสริมน้ำนิ่งปลาในอาหารต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งก้ามกราม. น. 3239-3246. ใน: การประชุมวิชาการแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 10 6-7 ธันวาคม 2556. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.
- วัฒนา วัฒนกุล, อุไรวรรณ วัฒนกุล และเจษฎา อีสหะ. 2557. ผลของการใช้น้ำนิ่งปลาเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลาช่อน. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ. 2(2): 121-130.
- ศิริภรณ์ โคตะมี, เพ็ญพรรณ ศรีสกุลเตียว และสมสมร แก้วบริสุทธิ. 2556. องค์ประกอบแร่ธาตุหลักในน้ำทะเลเปรียบเทียบกับน้ำเกลือสินเธาว์เพื่อการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกราม. แก่นเกษตร. 41(4): 419-424.
- สุดารัตน์ นิลรัตน์, กัญญารัตน์ นามเจริญ, ธนิษฐา ทรรพนันท์ และอมรศักดิ์ สวัสดิ์. 2562. ชีวิตวิทยาและการประมงปูม้าในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 21(1): 117-127.
- สุรพล ฉลาดคิด. 2564. การสำรวจการทำประมงอวนจมูเพื่อการพัฒนาเศรษฐกิจชุมชนบริเวณหาดวอนนภา อำเภอเมืองชลบุรี จังหวัดชลบุรี. วารสารวิจัยรำไพพรรณี. 15(1): 127-136.
- อนงค์ คุณอาจ, เบญจมาศ ไพบูลย์กิจกุล และชลี ไพบูลย์กิจกุล. 2553. ผลของวัตถุดิบอาหารกลุ่มโปรตีนและไขมันต่อการกระตุ้นการอยากกินอาหารในหอยหวาน *Babylonia areolata*. วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 15(11): 1061-1066.
- โชคชัย เหลืองธูปราณี. 2554. หลักการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. สำนักพิมพ์โพธิ์เพช. กรุงเทพฯ.
- Alberto, J.P.N. V.C.Sá Marcelo, F.F. Andriola-Neto, and D. Lemos. 2006. Behavioral response to selected feed attractants and stimulants in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture. 260: 244 –254.
- AOAC. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th Edition. AOAC International, Rockville, MD, USA.
- AOAC. 2019. Official Methods of Analysis of AOAC International. Gaithersburg, Maryland, USA.
- APHA, AWWA and WEF. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Edition. United Book Press Inc., Baltimore, Maryland, USA.
- Bardera, G., A.G.O. Matthew, N.F. Felipe, M.A.C. Jose, A.S. Katherine, and E.A. Mhairi. 2020. Assessing feed attractability in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) using an automated tracking software. Aquaculture. 529: 1-10.
- Cheryl, A., P.S.B.R. James, and B. Sundaramoorthy. 2015. Determination of feeding stimulants in shrimp using a solid matrix bioassay. Biochemical and Cellular Archives. 15(1): 259-264.
- Chin, H.C., U.P.D. Gunasekera, and H.P. Amandakoon. 1991. Formulation of artificial feeds for mud crab culture: a preliminary biochemical, physical and biological evaluation, pp. 179-184. In: report of the seminar on the mud crab culture and trade the mud crab. 5-8 November 1991. Surat Thani, Thailand.
- Herbert, P., P. Barros, N. Ratola, and A. Alves. 2000. HPLC determination of amino acids in musts and port wine using OPA/FMOC derivatives. Journal of Food Science. 65(7): 1130-1133.
- Miguel, V.A., G. Kawamura, and K. Anraku. 2011. Bait improvement for swimming crab trap fisheries. New Frontiers in Crustacean Biology. 47-55.
- Montoya-Martínez, C., H. Nolasco-Soria, F. Vega-Villasante, O. Carrillo-Farnés, A. Álvarez-González, and R. Civera-Cerecedo. 2018. Attractability and palatability of ingredients in longarm river prawn *Macrobrachium tenellum* feed. Latin American Journal of Aquatic Research. 46(3): 615-620.

- Sasaki, K., and Y. Sawada. 1980. Determination of ammonia in estuary. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. 46(3): 319-321.
- Smith, D.M., S.J. Tabrett, M.C. Barclay, and S.J. Irvin. 2005. The efficacy of ingredients included in shrimp feeds to stimulate intake. Aquaculture Nutrition. 11(4): 263-272.
- Strickland, J.D.H., and T.R. Parsons. 1972. A Practical Handbook of Seawater Analysis. Fisheries Research Board of Canada Bulletin 167, Ottawa.
- Suresh, A.V., K.P. Kumaraguru vasagam, and S. Nates. 2011. Attractability and palatability of protein ingredients of aquatic and terrestrial animal origin, and their practical value for blue shrimp, *Litopenaeus stylirostris* fed diets formulated with high levels of poultry byproduct meal. Aquaculture. 319: 132–140.
- Tantikitti, C. 2014. Feed palatability and the alternative protein sources in shrimp feed. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 36(1): 51-55.
- Unnikrishnan, U., and R. Paulraj. 2010. Dietary protein requirement of giant mud crab *Scylla serrata* juveniles fed iso-energetic formulated diets having graded protein levels. Aquaculture Research. 41: 278–294.
- Yuan, Y., A.L. Lawrence, S.B. Chehade, K.E. Jensen, R.J. Barry, L.A. Fowler, R. Makowsky, M.L. Powell, and S.A. Watts. 2021. Feed intake as an estimation of attractability in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture. 532: 1-6.