

## อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

สำรวจบ่อเลี้ยงกุ้งก้ามกรามของเกษตรกรในเขตอำเภอบ้านโพธิ์ จังหวัดฉะเชิงเทรา สุ่มตัวอย่างกุ้งก้ามกรามที่เลี้ยงในบ่อดินขนาดมากกว่า 20 ไร่ ที่มีกลิ่นโคลนโดยแบ่งเป็น 4 ระดับ ระดับละ 5 ตัว เก็บรักษาในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็งและนำตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณจีออสมินในห้องปฏิบัติการ นำกุ้งก้ามกราม 25 ตัว มาเลี้ยงแบบแยกเดี่ยวในตะกร้าขนาด 10x15x10 เซนติเมตร ในบ่อคอนกรีตขนาด 1.0x1.2x1.0 เมตร ที่มีระบบหมุนเวียนน้ำ ให้อาหารวันละ 2 มื้อ เลี้ยงกุ้งก้ามกรามเป็นระยะเวลา 7 วัน หลังจากนั้นสุ่มกุ้งก้ามกรามจำนวน 3 ตัว มาวิเคราะห์ปริมาณจีออสมิน

### 1. ศึกษาปริมาณจีออสมินในเนื้อกุ้งก้ามกรามจากบ่อดิน

1.1 สุ่มตัวอย่างกุ้งก้ามกราม (ภาพที่ 4, 5) จากฟาร์มเลี้ยงกุ้งก้ามกราม เก็บรักษากุ้งก้ามกรามในกล่องโฟมบรรจุน้ำแข็ง และนำกลับมาแช่แข็งที่ห้องปฏิบัติการก่อนนำมาวิเคราะห์ปริมาณจีออสมิน

### 1.2 เตรียมกราฟและสมการความเข้มข้นมาตรฐานของจีออสมิน

โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatograph/mass spectrophotometry (ภาพที่ 6-12) นำสารละลายมาตรฐานจีออสมิน (sigma) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่มี methanol เป็นตัวทำละลาย เตรียมสารละลายมาตรฐานจีออสมินให้ได้ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม/ลิตร เจือจางด้วย deionized water ให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานจีออสมิน 0, 10, 20, 30, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัม/ลิตร ใช้ micropipette ดูดสารละลายมาตรฐานจีออสมิน แต่ละความเข้มข้น 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวด vial สีชาขนาด 40 มิลลิลิตร ปิดด้วยฝาที่มี septum ก่อนการวิเคราะห์เติม NaCl 5 กรัม นำไปสกัดด้วย column SPME (solid phase micro-extraction) supelco 57330-u USA โดยใช้ SPME fiber divinylbenzen/ carboxen/polydimethyl siloxane supelco 57550-u USA ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พร้อมทั้งกวนสารละลายตลอดการสกัด หลังจากนั้นนำก๊าซที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ทันทีด้วย เครื่อง GC/MS Agilent technologies 6890N network GC system/Agilent technologies 5973 network mass selective detector โดยใช้ column HP-5 (30m x 0.25 mm ID x 0.25 um) ปรับอุณหภูมิเริ่มต้นในการวิเคราะห์ที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6.13 นาที เพิ่มอุณหภูมิเป็น 200 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราการอุณหภูมิเพิ่มขึ้น 20 องศาเซลเซียส/นาที หลังจากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 250 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราการอุณหภูมิเพิ่มขึ้น 10 องศาเซลเซียส/นาที นำค่าข้อมูลจากการวิเคราะห์ไปสร้างกราฟและคำนวณหาสมการความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานจีออสมิน กับ corrected area เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณจีออสมินในตัวอย่างที่วิเคราะห์

1.3 วิเคราะห์ปริมาณสารจือออสมินในเนื้อกุ้งก้ามกราม โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatograph/mass spectrophotometry นำเนื้อกุ้งก้ามกรามที่สุ่มมาจากบ่อเลี้ยงและกุ้งก้ามกรามที่นำมาเลี้ยงแบบแยกเดี่ยวในบ่อคอนกรีตที่มีระบบหมุนเวียนน้ำ เก็บรักษาแช่แข็งก่อนนำมาวิเคราะห์โดยชั่งน้ำหนักเนื้อกุ้งก้ามกราม 10 กรัม บดให้ละเอียด เติม methanol 5 มิลลิลิตร ปริมาตรด้วย deionized water ให้ได้ 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวด vial สีชาขนาด 40 มิลลิลิตร ปิดด้วยฝาที่มี septum ก่อนการวิเคราะห์เติม NaCl 5 กรัม และนำไปสกัดด้วย column SPME และวิเคราะห์ปริมาณจือออสมินด้วยเครื่อง gas chromatograph/mass spectrophotometry ตามวิธีการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานจือออสมิน นำข้อมูลทีวิเคราะห์ไปคำนวณปริมาณจือออสมิน โดยเปรียบเทียบกับกราฟและสมการความสัมพันธ์มาตรฐานของจือออสมิน

## 2. ศึกษาคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งก้ามกราม

สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ จากบ่อเลี้ยงที่กุ้งก้ามกรามที่มีกลิ่นโคลน และกุ้งก้ามกรามที่นำมาเลี้ยงแบบแยกเดี่ยวในบ่อคอนกรีตที่มีระบบหมุนเวียนน้ำ นำตัวอย่างน้ำมาวิเคราะห์ปัจจัยคุณภาพน้ำ ได้แก่ อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ความเป็นต่าง ปริมาณสารแขวนลอย ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและฟอสเฟตทั้งหมดตามวิธีของ APHA *et al.* (1995)

## 3. วิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณจือออสมินในเนื้อกุ้งก้ามกรามที่เลี้ยงในบ่อดิน และที่เลี้ยงแบบแยกเดี่ยวในบ่อคอนกรีตที่มีระบบหมุนเวียนน้ำ หาความสัมพันธ์ของปริมาณจือออสมินกับคุณภาพน้ำ โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป



ภาพที่ 4 บ่อเลี้ยงกุ้งก้ามกรามขณะจับกุ้ง



ภาพที่ 5 กุ้งก้ามกรามที่สุ่มตัวอย่างจากบ่อเลี้ยงเพื่อวิเคราะห์ปริมาณจีออสมินและทดสอบกลิ่นโคลน



ภาพที่ 6 เครื่อง GC/MS สำหรับวิเคราะห์ปริมาณ geosmin



ภาพที่ 7 ถังแก๊สฮีเลียมสำหรับใช้กับเครื่อง GC/MS สำหรับวิเคราะห์ปริมาณ geosmin



ภาพที่ 8 ชุดคอมพิวเตอร์สำหรับใช้ในการวิเคราะห์และประมวลผล



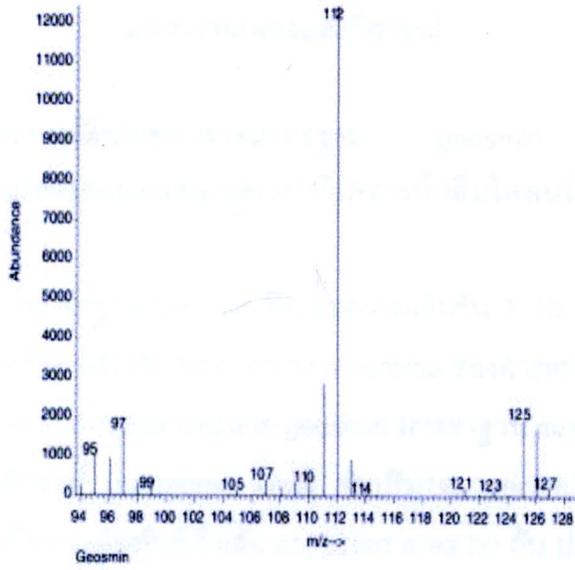
ภาพที่ 9 ให้ความร้อนกับตัวอย่าง โดยมี SPME fiber เป็นตัวดูดซับสาร geosmin



ภาพที่ 10 นำ SPME fiber ซีดตัวอย่างเข้าเครื่อง GC/MS



ภาพที่ 11 คอมพิวเตอร์ประมวลผลการวิเคราะห์สาร geosmin



ภาพที่ 12 mass spectrum จากการวิเคราะห์สาร geosmin