

วิจารณ์ผลการทดลอง

การใช้อาหารต่างชนิดกัน 8 ชุดการทดลองผสมฮอร์โมนเพศผู้ 17 α methyltestosterone ความเข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม อนุบาลลูกปลานิลตั้งแต่เริ่มกินอาหารเป็นระยะเวลา 21 วันปรากฏว่ามีอัตราการแปลงเพศไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยมีจำนวนเพศผู้สูงโดยเฉลี่ยถึง 97 เปอร์เซ็นต์ จึงแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มรายละเอียดในสัดส่วนต่าง ๆ ทั้งในอาหารกุ้งและปลาป่นไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของการแปลงเพศในลูกปลานิล ทั้งนี้เนื่องจากความเข้มข้นของฮอร์โมนเพศผู้ที่ใช้ผสมอาหารมีปริมาณที่เหมาะสม ประกอบกับวิธีการผสมอาหารให้เข้ากับฮอร์โมนเป็นไปอย่างทั่วถึง และมีการเก็บรักษาอาหารที่ผสมกับฮอร์โมนไว้เป็นอย่างดีและนำไปใช้ไม่เกิน 1 สัปดาห์ นอกจากนี้ การจัดการการให้อาหารอย่างมีประสิทธิภาพโดยให้อาหารจำนวน 5 มื้อต่อวัน ในปริมาณที่เหมาะสมตามระยะการเจริญเติบโตของลูกปลา และให้อาหารกระจายอย่างทั่วถึงทั้งกระชัง มีผลทำให้อัตราการแปลงเพศไม่แตกต่างกัน มีรายงานวิจัยแสดงให้เห็นว่าปริมาณฮอร์โมนเพศผู้ 17 α methyltestosterone ที่ความเข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระดับที่เหมาะสมที่ส่วนใหญ่ได้แนะนำมาใช้ในการผสมอาหารสำหรับอนุบาลลูกปลานิลเพื่อแปลงให้เป็นเพศผู้ล้วน อาทิ เรณู (2537) ศึกษาการแปลงเพศลูกปลานิล (*O. niloticus*) ในกระชัง อัตราความหนาแน่น 500 ตัว/กระชัง ให้อาหาร รำ:ปลาป่น (1 : 3) ผสมฮอร์โมน 17 α methyltestosterone ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 60 และ 80 มก./อาหาร 1 กิโลกรัม ให้อาหารวันละ 5 ครั้ง โดยที่ระดับความเข้มข้นที่ 60 มก./อาหาร 1 กิโลกรัมมีความเหมาะสมที่สุด และได้ตัวผู้ 100 เปอร์เซ็นต์ จากระยะเวลาที่ใช้ในการแปลงเพศ 20 วัน เช่นเดียวกับ Shelton *et al.*, (1981) ได้ทดลองให้ลูกปลานิลอายุ 7 - 12 วัน กินอาหารผสมฮอร์โมน 17 α methyltestosterone ความเข้มข้น 30 - 60 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ระยะเวลา 21 - 28 วัน จะได้ลูกปลานิลเพศผู้ 95 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ นวลมณี และคณะ (2547) ได้ทดลองให้ลูกปลานิลระยะถุงไข่ยุบอายุ 3 - 5 วัน กินอาหารผสมฮอร์โมน 17 α methyltestosterone ความเข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ระยะเวลา 21 วัน ลูกปลานิลมีสัดส่วนเพศผู้เฉลี่ย 97.90 ± 1.5 เปอร์เซ็นต์ เพ็ญพรรณและคณะ (2544) กล่าวว่า วิธีแปลงเพศของปลานิลของประเทศไทย ในปัจจุบันนิยมใช้วิธีการให้อาหารผสม 17 α methyltestosterone ความเข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ให้อาหารตั้งแต่เริ่มกินอาหารให้อาหารวันละ 5 มื้อ เป็นเวลา 21 - 30 วัน มีผลให้ได้ลูกปลาเพศผู้ 86 - 100 เปอร์เซ็นต์

ในขณะเดียวกันอาหารผสมฮอร์โมนเพศผู้ทั้ง 8 ชุดการทดลองอนุบาลลูกปลานิลเป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่าไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ได้แก่ น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน, อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการกินอาหาร ตามลำดับ จากสังเกตในระหว่างการอนุบาล พบว่าลูกปลานิลสามารถยอมรับอาหารทดลองได้ทุกชนิดและกินได้ดีเมื่อมีอายุประมาณ 1 สัปดาห์ และแย่งกันกินอาหารได้หมดอย่างรวดเร็วในเวลาอันสั้น มานพ และคณะ (2536) กล่าวว่าปลานิลเป็นปลาที่สามารถกินอาหารได้ตลอดเวลาทั้งบริเวณผิวน้ำ กลางน้ำ และพื้นท้องน้ำ และหากพิจารณาถึงระดับโปรตีนในอาหารจะพบว่า อาหารชุดการทดลองที่ 8 มีระดับโปรตีน 32 เปอร์เซ็นต์เพียงพอที่จะทำให้จะทำให้ลูกปลานิลเจริญเติบโตเท่ากับโปรตีนในชุดการทดลองที่ 1 โปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์, ชุดการทดลองที่ 2 โปรตีน 39 เปอร์เซ็นต์, ชุดการทดลองที่ 3 โปรตีน 38 เปอร์เซ็นต์, ชุดการทดลองที่ 4 โปรตีน 37 เปอร์เซ็นต์, ชุดการทดลองที่ 5 โปรตีน 35 เปอร์เซ็นต์, ชุดการทดลองที่ 6 โปรตีน 34 เปอร์เซ็นต์ และชุดการทดลองที่ 7 โปรตีน 33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Balarin and Haller (1982) รายงานว่าความต้องการโปรตีนของลูกปลานิลวัยอ่อน *Oreochromis niloticus* ขนาด 1 - 5 กรัม อยู่ระหว่าง 30 - 40 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการรายงานในปลาช่อน (Samantaray และ Mohanty, 1997) และปลาหมอ (สาวิตรี และคณะ, 2547) De silva et al. (1989) รวบรวมข้อมูลความต้องการโปรตีนของลูกปลานิล *Oreochromis mossambicus*, *O. niloticus*, *O. aureus* และ *Tilapia zillii* ที่มีขนาดระหว่าง 1 - 5 กรัม พบว่าโปรตีนในอาหารประมาณ 34 เปอร์เซ็นต์ ทำให้มีการเจริญเติบโตสูงสุด แต่จะให้จุดคุ้มทุนที่สุด ก็ระดับโปรตีนที่ 28 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ความต้องการโปรตีนของปลานิลลูกผสม (*O. niloticus* x *O. aureus*) พบว่าระดับโปรตีนตั้งแต่ 24 - 56 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลทำให้การเจริญเติบโตจำเพาะแตกต่างกันทั้งในสภาพการเลี้ยงในน้ำจืดและในน้ำเค็ม

การใช้อาหารผสมฮอร์โมนเพศผู้ต่างชนิดกัน 8 ชุดการทดลองอนุบาลลูกปลานิลเป็นระยะเวลา 21 วัน ปรากฏว่าให้ผลอัตราการรอดไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) และมีอัตราการค่อนข้างสูง มีจำนวนน้อยที่ตายน่าจะเกิดจากความบอบซ้ำของลูกปลาในระหว่าง การชั่งน้ำหนักในแต่ละสัปดาห์ และบางส่วนเนื่องมาจากลูกปลานิล ในระยะแรกมีขนาดเล็กค่อนข้างไวต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม ขณะที่ Mc Intoach and De Silva (1982) รายงานว่า การตายของลูกปลานิลในระหว่างการแปลงเพศส่วนใหญ่เกิดจากปัญหาการกินกันเอง เมื่อมีการจัดการอาหารไม่เหมาะสม และปล่อยลูกปลาหนาแน่นเกินไป จะทำให้ลูกปลามีอัตราการตายสูงถึงได้ถึง 10 - 30 เปอร์เซ็นต์

การใช้อาหารผสมฮอร์โมนเพศผู้ต่างชนิดกัน 8 ชุดการทดลองอนุบาลลูกปลานิลเป็นระยะเวลา 21 วัน ปรากฏว่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ทั้งนี้มีความเป็นไปได้ว่าลูกปลานิลได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนที่สูงพอ คือระหว่าง 30 - 40 เปอร์เซ็นต์ การให้อาหารในปริมาณที่น้อยแต่บ่อยครั้ง โดยสูตรอาหารที่มีรำละเอียดเป็นส่วนผสมอยู่พบว่าการลอยตัวของอาหารอยู่บนผิวน้ำได้นานจึงทำให้ลูกปลาสามารถใช้ประโยชน์จากอาหารได้ดีขึ้นแม้ปริมาณโปรตีนในอาหารลดลง ประกอบกับลูกปลามีอัตราการรอดและมีอัตราการกินอาหารที่ไม่แตกต่างกัน ส่วนสาเหตุที่ทำให้มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อค่อนข้างต่ำโดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 1.51 - 1.57 อิทธิพร (2532) กล่าวว่า อาหารที่มีคุณค่าทางโปรตีนสูงนั้นเมื่อใช้เลี้ยงปลาจะทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำ ในทางกลับกันอาหารที่มีคุณค่าทางโปรตีนต่ำจะทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูง และวิมล (2534) กล่าวว่าปลานิลมีนิสัยกินอาหารต่อเนื่องตลอดทั้งวัน และคบเคี้ยวอาหารก่อนกลืนลงกระเพาะ บ่อยครั้งที่พบว่าปลานิลจะคายอาหารที่เคี้ยวออกมา ทำให้อาหารบางส่วนแตกกระจายในน้ำและเกิดความสูญเสีย และในทำนองเดียวกันความถี่ในการให้อาหารต่อวัน ก็มีผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อโดยความถี่ในการให้อาหารที่สูงขึ้นจะทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำลง เนื่องจากปลานิลเป็นปลาที่ไม่มีกระเพาะที่แท้จริงและในธรรมชาติปลานิลจะกินอาหารต่อเนื่องตลอดวัน การย่อยอาหารจึงเป็นไปอย่างช้า ๆ ดังนั้น การให้อาหารในปริมาณน้อย ๆ แต่บ่อยครั้ง ก็สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารให้ได้มากขึ้น

ในทางตรงข้าม พบว่าการใช้อาหารผสมฮอร์โมนเพศผู้ต่างชนิดกัน 8 ชุดการทดลองอนุบาลลูกปลานิลเป็นระยะเวลา 21 วัน ให้ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์โปรตีนสุทธิแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์โปรตีนสุทธิมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณโปรตีนในอาหารลดลงหรือเมื่อเพิ่มส่วนผสมของรำละเอียดสูงขึ้นทั้งในอาหารกึ่งและในปลาปน ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าการใช้ประโยชน์จากอาหารเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มส่วนผสมของรำละเอียด เนื่องจากรำละเอียดมีน้ำหนักรวมและลอยน้ำได้เป็นเวลานานทำให้ลูกปลาสามารถใช้ประโยชน์โปรตีนจากอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงขึ้นตลอดช่วงเวลาของการอนุบาล ในขณะที่อาหารกึ่งและปลาปนพบประสิทธิภาพของการใช้ประโยชน์จากโปรตีนลดลงน่าจะเนื่องมาจากอาหารส่วนหนึ่งที่ลูกปลากินไม่ทันและสูญเสียไปกับการละลายน้ำ De silva et al. (1989) รายงานว่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของลูกปลานิลวัยอ่อน *Oreochromis mossambicus*, *O. niloticus*, *O. aureus* และ *Tilapia zillii* ที่มีขนาดระหว่าง 1 - 5 กรัม โดยให้อาหารที่โปรตีน 40, 42 และ 44 เปอร์เซ็นต์ พบว่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนเท่ากับ 1.76, 1.70 และ 1.63 โดยทั่วไปพบว่าแนวโน้มของการใช้ประโยชน์จากอาหารจะลดลงเมื่อปลามีการเจริญ

เดบิตเพิ่มขึ้นซึ่งคาดว่าเป็นผลเนื่องมาจากผลของกระบวนการเมตาบอลิซึมที่ลดลงและการใช้จ่ายพลังงานต่อหน่วยน้ำหนักตัวลดลงเมื่อปลา มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นหรือมีอายุมากขึ้น ขณะที่ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในปลาจะสูงขึ้นเมื่อปลา มีการเจริญเติบโตที่สูงขึ้น ทั้งนี้เป็นผลจากปลาที่มีขนาดเล็กจะมีกิจกรรมของเอ็นไซม์ที่ต่ำกว่า และอาหารที่มีปริมาณโปรตีนสูงเกินความจำเป็น พลังงานที่ไม่ใช่โปรตีนจะน้อยลงทำให้ปลาต้องเผาผลาญโปรตีนส่วนหนึ่งมาใช้เป็นพลังงานทดแทน NRC (1983) รายงานว่า ถ้าไม่มีโปรตีนพอเพียงในอาหารแล้วจะมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลงอย่างรวดเร็ว หรือหยุดชะงักหรือน้ำหนักลดลง เพราะสัตว์ใช้โปรตีนจากเนื้อเยื่อ (tissue) บางส่วนเพื่อใช้ในการดำรงชีวิต ในทางตรงกันข้ามถ้ามีโปรตีนในอาหารมากเกินไปโปรตีนส่วนใหญ่จะถูก metabolize ไปเป็นพลังงานและโปรตีนส่วนน้อยนำไปใช้สร้างโปรตีนใหม่ไป (Hepher, 1988) ทั้งนี้ยังมีรายงานผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนกับระดับโปรตีนในอาหาร และความสัมพันธ์ระหว่างค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ กับระดับโปรตีนในอาหารที่ใช้วัดดูโปรตีนที่แตกต่างกันในปลาเรนโบว์เทรา (Watanabe and Pongmaneerat, 1991) และในปลาตะเพียน common carp (Watanabe and Pongmaneerat, 1991) ซึ่งพบว่าค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิจากอาหารจะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับโปรตีนในอาหารลดลง

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. การใช้รำละเอียดผสมอาหารกุ้งเบอร์ 0 และ ปลาป่น ที่ระดับต่าง ๆ กัน ผสมฮอร์โมนเพศผู้ในการอนุบาลลูกปลานิลเพื่อการแปลงเพศ ไม่มีผลต่อน้ำหนักตัวเฉลี่ยสุดท้าย, ความยาวตัวเฉลี่ยสุดท้าย, อัตรารอด, อัตราการแปลงเพศ, น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน, อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ, อัตราการกินอาหาร และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) แต่ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์โปรตีนสุทธิมีความแตกต่างกัน ($P < 0.05$)

2. อาหารชุดการทดลองประกอบด้วยปลาป่น 70 เปอร์เซ็นต์ผสมกับรำละเอียด 30 เปอร์เซ็นต์ มีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในการอนุบาลลูกปลานิลเพื่อการแปลงเพศ

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาอาหารที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกปลานิลแปลงเพศเป็นการศึกษาการใช้รำละเอียดเพื่อทดแทน อาหารกุ้งเบอร์ 0 และ ปลาป่น ในปลานิลแปลงเพศขนาดเล็ก ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการทดแทนอาหารที่มีรำละเอียด เป็นส่วนประกอบ ให้เพิ่มมากขึ้นว่าจะมีผลต่อประสิทธิภาพของการแปลงเพศ, การเจริญเติบโต และการใช้ประโยชน์ของโปรตีนในลูกปลานิลอย่างไร

2. ควรศึกษาการใช้วัตถุดิบอาหารจากแหล่งอื่นที่สามารถหาได้ในพื้นที่เพื่อนำมาทดแทนอาหารกุ้งเบอร์ 0 และ ปลาป่น เพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตอาหารที่ใช้เลี้ยงปลานิลแปลงเพศและเป็นการใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบในท้องถิ่นให้เกิดประโยชน์มากยิ่งขึ้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กฤษฎิ์พันธ์ โกเมนไรรินทร์, คงภพ อำพลศักดิ์ และ จินตนา นิรธรรม. 2543. ผลของความเค็มต่ออัตราการเจริญเติบโตของปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 2. เอกสารวิชาการฉบับที่ 27/2543. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ.

กรมประมง. 2549. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2547. เอกสารฉบับที่ 10/2549. ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2543. หลักการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง คณะผลิตกรรมการเกษตร, มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

_____ และ จงกล พรหมยะ. 2539. การเลี้ยงปลานิลเพศผู้อัตราต่างๆ ในนาข้าว. วารสารประมง 49 (5) : 418.

เกียรติเกษตร กาญจนิสุทธิ, มโนธรรม สัจฉ์ถาวร, อดุลย์ พงศ์สุวรรณ, บรรณ บุรณะ และ ลิจิต เอียดแก้ว. 2540. ปลาที่เลี้ยงง่าย. พิมพ์ครั้งที่ 3. BS กรู๊ป, กรุงเทพฯ.

เจมชาติ จิวประสาท. 2538. ผลของความถี่การให้อาหารต่อการใช้ประโยชน์และการย่อยโปรตีนในอาหารปลานิล ที่มีไขมันต่ำปะหลังเป็นส่วนผสมในปริมาณต่าง ๆ กัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เจษฎา ธนกิจกร. 2540. การปรับปรุงความทนทานต่อความเค็มในปลานิล(*Oreochromis niloticus*) โดยการผสมข้ามชนิดกับปลาหมอเทศ (*Oreochromis mossambicus*). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

แจ่มจันทร์ แสงศรี. 2534. ผลของเมทิลทดสอบโรนในการเปลี่ยนเพศของปลาตะเพียนขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิริ กอนันตกุล. 2542. การเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ. กองประมงน้ำจืด, กรมประมง.

_____, สุทัศน์ เผือกจันทร์ และ สุรพงษ์ วิวัชรโกเศศ. 2546. การเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เพศผู้ระหว่างสายพันธุ์จิตรลดา, GMT และ GIFT ที่เลี้ยงในกระชัง. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 12/2546. ศูนย์วิจัยและทดสอบพันธุ์สัตว์น้ำอุตรดิตถ์.,

ชาติชาย คงประเสริฐ. 2543. การเลี้ยงปลา. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์เกษตรบุ๊ค, นนทบุรี.

นวลมณี พงศ์ธนา และ พุทธรัตน์ เป้าประเสริฐกุล. 2538. การทดลองเลี้ยงปลานิลเพศผู้ GMT. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 7/2538. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ.

_____, สายฝน เสี่ยงหวาน และ จินตนา นิธรรม. 2547. ผลของการใช้ฮอร์โมนแอนโดรเจนในการแปลงเพศปลานิล. วารสารประมง 57 (3) : 251.

ประดิษฐ์ ศรีภัทรประสิทธิ์, เรณู ว่องส่งสาร, ศุภวัฑฒ์ โกมลมาลย์, อมร บัวผัน และ นิพนธ์ ศิริพันธ์. 2533. การเปรียบเทียบการอนุบาลลูกปลานิลแปลงเพศและปลานิลธรรมดาในกระชัง. รายงานประจำปี 2533. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด จังหวัดอุดรธานี กองประมงน้ำจืด, กรมประมง.

พรรณศรี จริโมภาส, ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, สุปราณี ชินบุตร และ อนุสิน อินทร์ควร. 2538. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของฮอร์โมนเพศชายสองชนิดที่มีผลต่อการแปลงเพศปลานิลสีแดง. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 168/2538. สถาบันวิจัยประมงน้ำจืด กรมประมง.

พรศักดิ์ ตั้งรัตนสมบูรณ์. 2543. การเปรียบเทียบผลของวิตามินซีรูปแบบต่างๆ ในอาหารปลานิล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พรเลิศ จันทร์รัชกุล. 2530. การใช้เกลือแกงเพื่อลดอัตราการตายของลูกปลาดุกด้าน เนื่องจากการขนส่ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พิศมัย สมสืบ. 2543. ระดับโปรตีนและพลังงานที่เหมาะสมในอาหารสำหรับกบนา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เพ็ญเพ็ญ จ้ายเจริญ. 2547. การจัดการการเลี้ยงปลานิล *Oreochromis niloticus* (Linn.) ในกระชัง ในอ่างเก็บน้ำเขื่อนลำนางรอง จังหวัดกาฬสินธุ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไพฑูริย์ หอมดี. 2545. ผลของระดับแคลเซียม, แมกนีเซียม, โพแทสเซียมในน้ำเกลือดินเหนียวต่อการเจริญเติบโตของปลานิล *Oreochromis niloticus* (Linn.) ที่เลี้ยงในความเค็มที่ต่างกัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไพฑูริย์ วรสายพันธ์ และ ณัฐพงษ์ เพชรฤทธิ์. 2547. การเพาะพันธุ์ปลานิลแปลงเพศโดยใช้ฮอร์โมนผสมอาหาร. วารสารประมง 57 (2): 163 -1 67.

มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, พรรณศรี จริโมภาส, สุจินต์ หนูขวัญ, กำชัย ลาวัณยวุฒิ, วีระ วัชรกรโยธิน และ วิมล จันทโรทัย, 2536. การพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลานิล. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 23/2536. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด, กรมประมง.

เรณู ว่องวิลัย. 2537. การแปลงเพศปลานิลในกระชัง. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 41/2537. ศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืดจังหวัดอุดรธานี.

วาสนา มณีรัตน์. 2539. ผลของวิตามินซีต่อความต้านทานโรคและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในปลาดุกเทศ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วรพงษ์ นลินานนท์. 2545. การกำจัดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในเนื้อปลา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วัชรินทร์ นิยม. 2548. ผลของวิตามินซีต่อความต้านทานโรคและความทนทานต่อความเครียดในปลาหางนกยูง (*Poecilia reticulata* Potors). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536 ก. การเพาะเลี้ยงพันธุ์ปลา. ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

_____. 2536 ข. อาหารปลา. ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2542. โภชนศาสตร์สัตว์น้ำและการให้อาหารสัตว์น้ำ. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วุฒิพร พรหมขุนทอง. 2547. การแทนที่ปลาป่นในอาหารปลานิลแดงแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus* Linn.) ด้วยกากเนื้อเมล็ดในปาล์มน้ำมัน. วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 26, 2 (มี.ค.-เม.ย. 2547).

สาวตรี ศิลาเกษ ดาราวรรณ ยุทธะรงค์ จูอะดี พงศ์ณิรัตน์ ทศนีย์ ภูพิพัฒน์ และพิสมัย สมสืบ. 2547. ระดับโปรตีนและพลังงานที่เหมาะสมในอาหารสำหรับปลาหมอ.

สันต์ นาคะสุวรรณ. 2548. คู่มือปลาน้ำจืด. พิมพ์ครั้งที่ 1. เพ็ทแพลสัน พับลิชชิง, กรุงเทพฯ.

สุทธิชัย ปทุมล่องทอง. 2545. การเลี้ยงปลาน้ำจืด. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์น้ำฝน, กรุงเทพฯ.

สุทัศน์ เผือกจีน และ ยงยุทธ ทักษิณ. 2544. การเลี้ยงปลานิลเพศผู้ 3 สายพันธุ์ในบ่อดิน. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 24/2544. สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดอุดรธานี.

สุภาพร สุกสีเหลือง. 2538. การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. ศูนย์หนังสือเสริมกรุงเทพ, กรุงเทพฯ.

สุวรรณิ สกุลทอง, ผ่องใส จันทศรี และ ราวี แสงทอง. 2547. การเปรียบเทียบอัตราการการเจริญเติบโตของปลานิลจิตรลดา 3 เพศเมียและเพศผู้ที่เลี้ยงในกระชังที่ระดับความหนาแน่นต่างกัน. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 43/2547. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดสุรินทร์.

อนันต์ชัย เขื่อนธรรม . 2542. **หลักการวางแผนการทดลอง**. ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์,
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ.

อรุณี สมมณี และ ชาญวุฒิ วิทยากุล. 2547. ผลของการขาดวิตามิน B 2 ต่อการเจริญเติบโต
การตาย และลักษณะผิดปกติของปลานิล. **วารสารประมง** 57 (3): 240.

_____ และ รัชณี จิตาพิพย์. 2546. ผลของการขาดวิตามิน C ต่อการเจริญเติบโต
การตาย และลักษณะผิดปกติของปลานิล. **วารสารประมง** 56 (1): 29.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2538. **การขยายพันธุ์ปลา**. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

AOAC (Association of Official Analysis Chemists). 1990. **Official Methods of Analysis**.
13th ed., Association of Official Analysis Chemists. Verginia. 1018 p.

Anadu, D.I., O.C. Anozie and A.D.Aanthyony. 1990. Growth response of tilapia zillii feed
diets containing various levels of ascorbic acid cobalt chloride. **Aquaculture** 88: 329 -
336.

APHA. 1992. **Standard Method for the examination of Water and Wastewater, 18th ed.**
American Public Health Association, American Water Works Association and Water
Pollution Federation, Washington, DC.

Capili, J.B., G.C. Mair, J.A. Beardmore and D.O.F. Skibinski. 1995. Communal growth
of 11 strains of mixed sex tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) and two strains of
Genetically Male Tilapia (GMT). **Aquaculture** 137: 328 - 329.

- Chervinski, J. 1982. Environmental physiology of Tilapia, pp. 119 - 128. In R.S.V. Pullin and R.H. Lowe-McConnell(eds.). **The Biology and Culture of Tilapia. ICLARM Conference Proceedings 7.** International Center For Living Aquatic Resources Management, Manila.
- Chou, B.C. and S.Y Shiau. 1996. Optimal dietary lipid level for growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*. **Aquaculture** 143: 185 - 195.
- Contreras-Sanchez, W.M., M.S. Fitzpatrick, R.H. Milston and C.B. Schreck. 1997. Masculinization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* by single immersion in 17 α -methyltestosterone and trenbolone acetate, pp 349 – 357. **In Proceeding of the 4th International Symposium on Tilapia in Aquaculture.** Orlando, Florida, NRAES-106
- Cristina, R.S., Dato-Cajegas, C.R.S and Y. Amararatne. 1996. The need for dietary mineral supplementation for Nile tilapia, *O. niloticus*, cultured in a semi-intensive system. **Aquaculture** 144 : 227 - 237.
- Dato-Cajegas, C.R.S. and A. Yakupitiyage. 1996. The need for dietary mineral supplementation for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, culture in a semi-intensive system. **Aquaculture** 144 : 227 - 237.
- De Silva, S.S., R.M. Gunasekera and D. Atapattu. 1989. The dietary protein requirements of young tilapia and on evaluation of the least cost dietary protein level. **Aquaculture** 80: 271 - 284.
- EI-Sayed, A.M. and S. Teshima 1992. Protein and energy requirements of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fry. **Aquaculture** 103: 55 - 63.

- Eid, A.E. and S.I. Ghonium. 1994. Dietary zinc requirements of fingerling *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture** 119: 259 - 264.
- Eguia ,R., Rowena R.M. and R.V. Eguia. 1995. Reproductive performance of four red tilapia strains in different seed production system. **Aquaculture** 137 : 325 - 332.
- Gale, W.L., M.S. Fitzpatrick, M. Lucero, W.M. Contreras-Sanchez and C.B. Schreck. 1999. Masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by immersion in androgen. **Aquaculture** 178: 349 - 357.
- Graffhoff, H. 1976. **Methods of Seawater Analysis**. Veriag Chemic, New York. 317 p.
- Gunasekera, R.M., K.F. Shim and T.J. Lam. 1995. Effect of dietary protein level on puberty, oocyte growth and egg chemical composition in the tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture** 134 : 169 - 183.
- _____, 1972. The role of ascorbic acid in fish disease and tissue repair. **Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.** 38: 79 - 92.
- _____, C.Y. Cho and J. Slinger. 1978. Effect of graded level of supplemental ascorbic acid in practical diets fed to rainbow trout. **J. Fish Res. Bd. Can.** 35 : 431 - 436.
- Huang, C.H., R.J. Chang, S.L. Huang and W. Chen. 2003 Dietary vitamin E supplementation affects tissue lipid peroxidation of hybrid, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B** 134: 265 - 270.
- Hulata, G, I. Karplus and S. Harpaz. 1995. Evaluation of some red tilapia strain for aquaculture: growth and colour segregation in hybrid progeny. **Aquaculture** 26: 765 - 771.

- Hunter, G.A. and E.M. Donaldson. 1981. Hormonal sex control and its application to fish culter. pp. 223-303, *In* Hoar, W.S, D.J. Randall and E.M. Donaldson (Edition). **Fish Physiology Vol IX B**. Academic Press, New York.
- Little, D.C. 1989. **An Evalution of Strategies for Production of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)**. Fry Suitable for Hormonal Treatment. Ph.D. Thesis, Stirling Univ., Scotland.
- Little, D.V. and P. Edwards. 2004. Impact of nutrition and season on pond culture performance of mono-sex and mixed-sex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture** 232: 279 - 292.
- Lovell, T. 1989. **Nutrition and feeding of fish**. Van Nostrand Reinhold. New York. 260 p.
- Lovell, R.T. 1981. Intestinal synthesis of nutrients in fish. **Aquaculture Magazine** 7: 34 - 35.
- MacFaddin, J.K. 1980. **Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria**, 2nd ed., Williams and Wilkins, Baltimore. 572 p.
- Mair, G.C, J.B. Capili, J.A. Beardmore and D.O.F. Skibinski. 1992. **The YY male technology for production of monosex male tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.)**. pp. 93 - 95. *In* Proceeding of the International Workshop on genetics in Aquaculture and Fisheries Management, Stirling, Scotland.
- McAndrew, B.J., F.R. Roubal, R.J. Roberts, A.M. Bullock and I.E. McEwen. 1988. The genetics and histology of red, bland and associated colour variants in *Oreochromis niloticus*. **Genetica** 76: 127 - 137.

- McKee, J.E. and H.W. Wolf. 1963. **Water Quality Criteria**, 2nd ed. State of Calif., State Water Quality Control Board, Publ. No. 3 -A, Sacramento.
- Melard, C. 1995. Production of a high percentage of male offspring with 17 α -ethynylestradiol sex-reversed *Oreochromis aureus*. I. Estrogen sex-reversal and production of F2 pseudofemales. **Aquaculture** 130: 25 - 34.
- Mires, D. 1977. Theoretical and practical aspects of the production of all-male tilapia hybrids. **Bamidgeh** 29: 94 - 101.
- National Research Council (NRC). 1993. **Nutrient Requirements of Fish**. National Academy Press, Washington, D.C. 114 p.
- Nelson, J.S. 1994. **Fishes of the World**. 3rd ed., John Wiley and Sons, Inc., New York, New York . 600 p.
- Roem, A.J., C.C. Kohler and R.R. Stickney. 1990. Inability to detect a choline requirement for the blue tilapia *Oreochromis niloticus*. **J. World Aqua. Soc.** 21: 238 - 240.
- Romena, R.M., Romana-Eguia and R. V. Eguia. 1995. Reproductive performance of four red tilapia strains in different seed production systems. **Aquaculture** 137: 328.
- Samantaray K. and S.S. Mohanty. 1997. Interactions of dietary levels of protein and energy on fingerling snakehead, *Channa striata*. . **Aquaculture** 156: 241 - 249.
- Seawright, D.E., R.R. Stickney and R.B. Walker. 1998. Nutrient dynamics in integrated aquaculture-hydroponics system. **Aquaculture** 160: 215 - 237.

- Shiau, S.Y. and C.Y. Peng. 1993. Protein-sparing effect by carbohydrates in diets for tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*. **Aquaculture** 117: 327 - 334.
- _____ and Y.H. Chin. 1999. Estimation of the dietary biotin requirement of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture** 170: 71 – 78
- Shelton, W.L., R.D. Guerrero and J. Lopez-Marcias. 1981. Factors effecting androgen sex-reversal of *Tilapia aurea*. **Aquaculture** 25: 59 - 65.
- _____ and T.S. Hsu. 1995. Quantification of vitamin C requirement for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*, with L-ascorbyl-2-monophosphate- Na and L-ascorbyl-2- monophosphate-Mg. **Aquaculture** 175: 317 - 326.
- _____. 1999. Quantification of vitamin C for juvenile hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*, with L-ascorbyl- 2 - monophosphate – Na (AMP-Na) and L-ascorbyl-2 - monophosphate – Mg. **Aquaculture** 175: 317 - 326
- _____ and Y.P. Yu. 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depress growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*. **Aquaculture** 179: 439 - 446.
- Sugita, H., C. Miyajima and Y. Deguchi. 1991. The vitamin B₁₂ –producing ability of the intestinal microflora of fresh water fish. **Aquaculture** 92: 267 - 276.
- Szent- Gyorgyi, A. 1928. Observation on the function of peroxidase systems and the chemistry of the adrenal cortex-description of a new carbohydrate derivative. **Biochem. J.** 22: 1387 - 1397.

- Tayamen, M.M. and W.L. Shelton. 1978. Inducement of sex reversal in *Sarotherodon niloticus* L. **Aquaculture** 14: 349 - 354.
- Trewavas, E. 1982. Generic grouping of Tilapia used in aquaculture. **Aquaculture** 27: 79 - 81.
- Tuan, P.A., D.C. Little and G.C. Mair. 1998. Genotypic effect on comparative growth performance of all-male tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture** 159: 293 - 302.
- Viola, S., U. Arieli and S. Mokady. 1988. Effect of long term feeding of fish oil coated pellets on tilapia and carp growth, body fat composition and tolerance to cold Israel. **Aquaculture** 19: 25 - 38.
- Wang, X.Y. and P.A. Seib. 1990. Liquid chromatographic determination of combined form of L- ascorbic acid. **Aquaculture** 87: 65 - 84.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

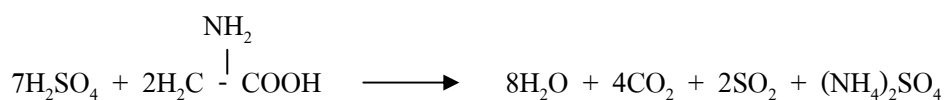
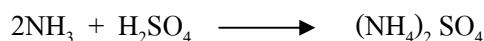
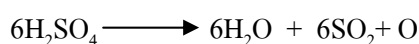
การวิเคราะห์โปรตีน

หลักการ

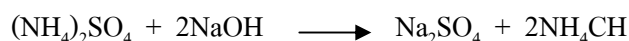
โปรตีนเป็นสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนเชื่อมต่อกัน การวิเคราะห์เพื่อหาโปรตีนใช้วิธีของ Kjeldahl method เพื่อหาปริมาณของไนโตรเจนทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหาร ยกเว้น สารพวก nitrate และ nitrite เพื่อดำเนินการหาปริมาณโปรตีนในอาหารนั้น

ขั้นตอนการวิเคราะห์ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนคือ

1. การย่อย เป็นการเปลี่ยนสารไนโตรเจนให้อยู่ในรูปของ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ โดยกรดซัลฟูริกเข้มข้น

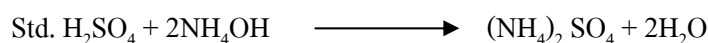


2. การกลั่น เพื่อไล่แอมโมเนียออกมาโดยใช้ NaOH และเก็บไว้ในสารละลายกรดมาตรฐาน หรือ Boric acid



3. การไตเตรท

การใช้ Boric acid 2-4% ในการเก็บแอมโมเนียเพื่อใช้ไตเตรท ด้วยสารละลายกรดมาตรฐาน เพื่อหาปริมาณสารละลายกรดมาตรฐานที่ทำปฏิกิริยากับแอมโมเนีย



ค่าที่ได้นำไปคำนวณหาค่าไนโตรเจนแล้วคูณด้วย Empirical factor เพื่อหาเปอร์เซ็นต์โปรตีน

Nitrogen ส่วนใหญ่ในอาหารสัตว์คือโปรตีน โดยปกติ โปรตีนจะมีปริมาณของ Nitrogen อยู่ประมาณ 16 % ดังนั้นเมื่อวิเคราะห์หาค่าของ Nitrogen แล้วคูณด้วย 6.25 จะได้ค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนในตัวอย่าง

วิธีการวิเคราะห์หาโปรตีน

การชั่งตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ต้องสุ่มตัวอย่างให้สม่ำเสมอโดยเฉพาะตัวอย่างที่มีลักษณะแตกต่างกัน เช่น เนื้อปลาทั้งตัว อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย กากถั่วเหลือง มันเส้น เป็นต้น ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง ทศนิยม 3 ตำแหน่ง 0.000 เป็นอย่างต่ำ

1.1 ตัวอย่างแห้ง บดละเอียด

ถ้าตัวอย่างมี ไนโตรเจน มากกว่า 5% (>30%P) ใช้ตัวอย่าง 0.500 กรัม

ถ้าตัวอย่างมีไนโตรเจน น้อยกว่า 5% (<30%P) ใช้ตัวอย่าง 1.000 กรัม

1.2 ตัวอย่างเป็นของเหลว เช่น สาหร่าย แพลงก์ตอน นมสด เป็นต้น ควรทำให้แห้งด้วยวิธี Freeze dry ก่อน หรืออบแห้งไม่เกิน 60°C 24 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักเช่นเดียวกับตัวอย่างแห้ง ถ้าตัวอย่างต้องการวิเคราะห์สด ใช้ปริมาณ 10-100 ml. และทราบความเข้มข้นที่แท้จริงแล้ว

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. Sulfuric acid 98% H_2SO_4 Cone. Nitrogen free for analysis
2. Standard Sulfuric acid 0.1 N ใช้ Volumetric pipet 3 ml วัด H_2SO_4 Cone. 3.0 ml เติมในน้ำกลั่นใน volumetric flask ทิ้งให้เย็นปรับปริมาตรจนครบ 1 ลิตร สารละลายที่ได้มีความเข้มข้นประมาณ 0.1 N จากนั้นนำไป standardize ด้วย Tris buffer สำหรับ H_2SO_4 หรือเตรียมจาก Tritisal H_2SO_4 Cone 0.1N ละลายน้ำกลั่น 1 ลิตรใน volumetric flask
3. Sodium hydroxide Nitrogen free 40% NaOH ชั่ง NaOH 400 g ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ขณะที่สารละลายจะเกิดความร้อนและมีกลิ่นไอระเหยออก ควรทำการเตรียมในตู้ดูดควัน Fume hood และวาง beaker ในอ่างน้ำเย็น
4. Kjeldahl catalyst
 - Selenium reaction mixture (Merck No 8030)

- Selenium reaction mixture of :

100 g Potassium sulfate K_2SO_4 (e.g. Merck 5153)

10 g Copper (II) sulfate $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (e.g. Merck 2790)

2 g Selenium nigrum (e.g. Merck 7714)

5. Indicator mixed : 0.3 g Bromocresol green and 0.2 g methyl red in 400 ml ethyl alcohol 90% สารละลายที่ได้จะเปลี่ยนเป็นสีแดง ในสภาพของสารของสารละลายกรด และเป็นสีน้ำเงินในสภาพเป็นด่าง

6. Boric acid 4% ละลายในน้ำกลั่น

การย่อยตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 0.250- 0.500 g ใส่ใน digestion tube (W)
2. เติม Kjeldahl catalyst mixture ที่มีส่วนผสมของ selenium อยู่ด้วย ประมาณ 5-10 กรัม
3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4 Cone) ลงในหลอดย่อย 10 มิลลิลิตร
4. นำไปย่อยที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 45 - 60 นาที จนสังเกตเห็นเป็นสารละลายสีเขียวใส ทิ้งให้เย็นประมาณ 20 นาที

การเตรียมเครื่องย่อยตัวอย่าง

1. เปิดเครื่องกำจัดควันพิษ และเครื่องกำจัดกลิ่นไอระเหย fume hood ตลอดเวลา
2. เปิดเครื่องย่อยที่เลข 10 เพื่ออุ่นเครื่อง 10 -15 นาที
3. ขณะย่อยตัวอย่างให้ลดความร้อนลงมาที่เลข 8 อุณหภูมิ 550°C สังเกตการเดือดถ้ารุนแรงให้ลดไปลง ระหว่างการย่อยให้สังเกตระดับการกลั่นตัวของกรดซัลฟูริก และควันสีขาวจะต้องไม่เกินขอบสแตนเลสของรางย่อยตัวอย่าง ควบคุมโดยการปรับอุณหภูมิในการย่อย
4. ในระหว่างการย่อยตัวอย่างหากมีกลิ่นไอรคออกมาในห้องให้ตรวจสอบที่ Scrubber Unit ว่าทำงานปกติหรือไม่ หรือมีการรั่วของไอรคออกมา หากมีกลิ่นไอรคให้ระบายอากาศในห้อง เปิดประตูหน้าต่าง ปิดเครื่องปรับอากาศ เปิดเครื่องกำจัดควันพิษ (fume hood) และออกจากห้องทันที

การเตรียมเครื่องกลั่น

1. เปิดเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Cooling unit 10-15°C ก่อนเปิดเครื่องกลั่น 20 นาที
2. ตรวจสอบปริมาณน้ำและ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ในถังพักและในท่อส่งสาร ที่ต่อกับเครื่อง ให้ไหลฟองอากาศในท่อหลังการ preheating เพื่อไม่ให้เกิดฟองอากาศและได้ ปริมาตรสารถูกต้อง
3. เปิดสวิตช์ เครื่องด้านหลัง รอจนไฟ wait ดับ
4. เติมน้ำกลั่นในหลอดย่อย 100 ml นำหลอดย่อยต่อเข้ากับเครื่องด้านซ้ายมือขยับหลอด ให้พอดีกับลูกยางกดล๊อคจากน้ำนำ flash มีน้ำกลั่น ประมาณ 60 ml วางบนแท่นรองรับ
5. กดปุ่ม preheating เพื่อให้เครื่องทำงานประมาณ 3 นาที ระหว่างเครื่องทำงานจะเกิด เสียงดังเนื่องจากความแตกต่างของอุณหภูมิน้ำกับไอน้ำในระบบกลั่นระยะหนึ่ง เมื่อปรับอุณหภูมิ ใกล้เคียงกันแล้วเสียงดังจะหายไป เมื่อระบบอุ่นเครื่องทำงานเรียบร้อยแล้วจะดูดสารในหลอดทิ้ง โดยอัตโนมัติ แล้วไฟ start จะติดเครื่องจึงจะใช้งานได้ การทำ preheating ต้องทำการก่อนการกลั่นและ หลังกลั่นตัวอย่างเสร็จสิ้นในแต่ละวันเสมอเพื่อเป็นการบำรุงรักษาเครื่อง

การกลั่น

1. เตรียมกรดบอริก 2 % 60 มิลลิลิตร ในขวดลูกชมพู่ หยด mixed indicator (methyl red + bromocresol green) 5 หยด จะได้สารละลายสีชมพู นำไปตั้งที่เครื่องกลั่นให้ปลายหลอดกลั่น จุ่มในสารละลาย

2. นำหลอดตัวอย่างใส่ในใส่ในเครื่องกลั่น ตั้งโปรแกรมเครื่องกลั่น ให้ได้ปริมาตรสาร ตามต้องการโดยเลือกโปรแกรมดังนี้

น้ำกลั่น 30 ml

NaOH 40% 50 ml

ระยะเวลาใช้เวลากลั่นประมาณ 4 นาที สารละลายกรดบอริกจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมฟ้า

5. นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไตเตรตด้วย 0.1 N H_2SO_4 จนได้สารละลายสีชมพู บันทึกปริมาณที่ใช้

6. ทำ blank โดยวิธีเดียวกับการวิเคราะห์ ไม่ได้ตัวอย่าง เติมสารเคมีทำการย่อยและ กลั่นเช่นเดียวกันกับตัวอย่าง นำไปไตเตรตด้วย 0.1 N H_2SO_4 จนได้สารละลายสีชมพู บันทึก ปริมาณที่ใช้ (V1)

คำนวณหาค่าไนโตรเจนจากสูตร

$$\% \text{ไนโตรเจน} = \frac{(V_2 - V_1) \times N \times F \times 1.4}{W}$$

โดยที่ N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ (0.1 N)

F = factor ของกรดซัลฟูริก ได้จากการ standardization กับ Tris-buffer

V_1 = ปริมาณของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรต blank

V_2 = ปริมาณของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรตตัวอย่าง

W = น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (กรัม)

นำเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ได้คูณด้วยค่า Empirical factor คือ 6.25 จะได้ค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนของตัวอย่าง

สรุปขั้นตอนการวิเคราะห์โปรตีน

Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content Block digestion/ steam distillation method

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง (W)

- 0.500-1.0000 g (3-30% protein)

- 0.2500-0.500 g (30-80% protein)

2. การย่อย digestion

2.1 เติมน้ำ catalyst 5 g

2.2 เติมน้ำ H_2SO_4 Cone. 10-15 ml

2.3 นำไปย่อยในเครื่องย่อย digestion block $420^\circ C$ เปิดเครื่องย่อยที่ เลข 10 เพื่ออุ่นก่อน 10-15 นาที ขณะย่อยตัวอย่างให้ลดไฟลงที่ เลข 8 ใช้เวลาใน 30-45 นาที จนกระทั่งควันเปลี่ยนเป็นขาว เล็กน้อย ตัวอย่างเปลี่ยนเป็นสีเขียว

2.4 ทำให้เย็น ยกออกจากเครื่องย่อย (รอให้เย็นก่อนจึงเปิดฝาทิ้งให้เย็น)

3. การกลั่น Distillation

3.1 นำหลอดย่อยตัวอย่างเข้าเครื่องกลั่น ปิดฝาทิ้งเครื่องตั้งโปรแกรมดังนี้

เติมน้ำกลั่น 30 ml

เติม 40% NaOH solution 50 ml

รอ 2 วินาที ถ้าตัวอย่างไม่เปลี่ยนเป็นสีดำ ให้กด NaOH เติมในหลอดย่อยจนเป็นสีดำ ตั้งเวลาในการกลั่น 4 นาที

3.2 ใช้ กรดบอริก H_3BO_3 4% 50 ml ในขวดชมพู หยด mixed indicator จนเป็นสีชมพู 5-8 หยด ใส่ที่ท่อคักแอมโมเนีย

3.3 กด start เครื่องจะทำการกลั่น 4 นาที ปริมาณสารที่ได้ประมาณ 150 ml

4. ไตรเตรท นำมาไตรเตรทด้วย 0.1N. H_2SO_4 บันทึกปริมาณที่ใช้ (V_2)

Blank test ใช้ น้ำกลั่น 2 ml + 0.6700 g ของ Sucrose แทนตัวอย่างนำมาไตรเตรท(V_1)

Recovery rate ใช้ glycine (NH_2-CH_2-COOH) ปริมาณไนโตรเจน 18.66%

อบ 80 °C 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นชั่งน้ำหนัก 0.2500 g + sucrose 0.6700 g

คำนวณหาค่าไนโตรเจนจากสูตร

$$\% \text{ ไนโตรเจน} = \frac{(V_2 - V_1) \times N \times F \times 1.4}{W}$$

โดยที่ N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ (0.1 N)

F = factor ของกรดซัลฟูริก ได้จากการ standardization กับ Tris-buffer

V_1 = ปริมาณของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตรเตรต blank

V_2 = ปริมาณของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตรเตรตตัวอย่าง

W = น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (กรัม)

นำเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ได้คูณด้วยค่า Empirical factor คือ 6.25 จะได้ค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนของตัวอย่าง

Standardization of H_2SO_4 0.1N using Tris-buffer

ชั่ง tris-buffer สำหรับกรดซัลฟูริก 0.1N ใช้ 120 mg (0.1200 g) ละลายในน้ำกลั่น 200 ml หยด indicator 5-8 หยดเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเขียวเข้ม ไตรเตรทด้วย 0.1N. H_2SO_4 จนถึง end point เปลี่ยนเป็นสีชมพู บันทึกปริมาตรที่ใช้ (V)

การคำนวณค่า factor

$$F = \frac{E}{121.14 \times N \times V}$$

E = น้ำหนัก tris buffer (mg)

N = normality H_2SO_4

V = ปริมาตรกรดที่ไตเตรท (ml)

Standardization of H_2SO_4 0.1 N

สูตร $V = \frac{100(MW)(N)}{BPD}$

BPD

V = ปริมาตรกรดเข้มข้น (cm^3) ที่ใช้เตรียมสาร 1 dm^3

MN = มวลโมเลกุลของกรด (60.03)

N = Normality สารละลายที่ต้องการ

P = % ความเข้มข้นของกรด (17.0M)

D = ความหนาแน่นหรือความถ่วงจำเพาะของกรด ($1.05 g/cm^3$)

B = Basicity (2)

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (Proximate analysis)

การวิเคราะห์ความชื้นและปริมาณของวัตถุแห้ง (Moisture and dry matter)

การวิเคราะห์ความชื้น สามารถทำได้หลายวิธีได้แก่

ก. การอบในตู้อบแห้ง โดยการให้ความร้อนสม่ำเสมอ ที่อุณหภูมิ 103-105°C เพื่อให้ความชื้นที่มีในวัตถุดิบอาหารหายไปจนได้น้ำหนักคงที่

ข. การอบในตู้สุญญากาศ (vacuum oven) น้ำจะกลายเป็นไอที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100°C ทำให้สารอื่นไม่ระเหยไปด้วย ค่าที่ได้คือความชื้นที่หายไป

ค. การทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze drying) หลักการวิธีนี้คือ ตัวอย่างจะถูกทำให้เย็นจนเป็นน้ำแข็ง (freeze) ที่อุณหภูมิ -20°C แล้วน้ำในสภาพของแข็งจะถูกทำให้เปลี่ยนเป็นไอโดยการระเหิด (sublimation) สารระเหยได้อื่นๆ ที่อยู่ในตัวอย่างจะไม่ระเหยไปด้วย น้ำหนักที่หายไปจึงเป็นน้ำหนักอย่างแท้จริง นอกจากนี้วิธีการดังกล่าวยังป้องกันการออกซิเดชัน ซึ่งมักเกิดขึ้นเนื่องจากการทำแห้งโดยใช้ความร้อนสูง การทำแห้งโดยวิธีนี้ใช้ความร้อนไม่เกิน 40°C เหมาะสำหรับตัวอย่างที่มีความชื้นสูงเพื่อเตรียมตัวอย่างวิเคราะห์ตัวอย่างแห้ง เช่น เนื้อปลาสด สหรัยต่างๆ ตะกอนเนื้อปลา เป็นต้น

ง. การอบที่อุณหภูมิไม่เกิน 70°C หลักการโดยทำให้น้ำถูกระเหยไปอย่างช้าๆ อุณหภูมิต่ำสามารถป้องกันการระเหยของสารระเหยได้ (volatile compound) ได้บ้าง และช่วยป้องกันการเกิด Browning reaction ได้ วิธีนี้นิยมทำในห้องปฏิบัติการทั่วไป เพราะไม่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษ แต่ค่าวัตถุแห้งที่ได้วิธีนี้ไม่นิยมถือว่าเป็นวัตถุแห้งที่แท้จริง นิยมใช้กับตัวอย่างที่มีความชื้นสูง โดยทำการอบให้แห้งที่อุณหภูมิไม่เกิน 70°C จนแห้งก่อนนำไปบด แล้วจึงสุ่มตัวอย่างเพื่ออบที่อุณหภูมิ 103°C ต่อไป เพื่อหาความชื้นที่แท้จริง

วิธีการวิเคราะห์หาความชื้นแบบ Drying method โดยใช้ตู้อบ

หลักการ

ความชื้นหรือน้ำเป็นองค์ประกอบอย่างหนึ่งในวัตถุดิบอาหารสัตว์ ซึ่งจะมีปริมาณผกผันกับปริมาณของวัตถุแห้ง (dry matter) วัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิดมีปริมาณความชื้นแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดและปัจจัยต่างๆ ความชื้นเป็นน้ำหรือสารละลายได้ทั้งหมด ที่สูญเสียไปจากอาหาร เมื่อเพิ่มความร้อนให้แก่อาหาร อุณหภูมิที่ให้แก่ออาหารต้องไม่สูงกว่าจุดเดือดของน้ำ จากหลักการนี้ จึงนำอาหารไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 – 105 °C จนได้น้ำหนักคงที่ แล้วนำค่าของน้ำหนักที่หายไปมาคำนวณหาความชื้น การหาความชื้นด้วยวิธีนี้ไม่เหมาะกับตัวอย่างที่มีสารระเหยง่ายเป็นส่วนประกอบ เพราะจะระเหยออกมาได้ในขณะที่อบ ทำให้ความชื้นสูงกว่าความเป็นจริง

$$\% \text{ วัตถุแห้ง (dry matter, DM)} = 100 - \% \text{ moisture}$$

อุปกรณ์

1. ขวดชั่ง Crucible จานกระเบื้องเคลือบ porcelin dish จานโลหะ หรือกระป๋องสำหรับหาความชื้น moisture can
2. ตู้อบ drying oven
3. โถดูดความชื้น dessicator
4. เครื่องชั่งแบบละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (0.0000)
5. คีมจับของร้อน

วิธีการเก็บข้อมูลพื้นฐาน

1. บันทึกลักษณะของตัวอย่าง (ชื่อตัวอย่าง ลักษณะภายนอกที่สังเกตได้ สี สภาพความชื้น แหล่งที่มา กลิ่น เป็นต้น)
2. เตรียมตัวอย่างอาหารโดยการบดตัวอย่างและผสมให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียวกัน

วิธีการวิเคราะห์ความชื้น

1. เตรียม crucible โดยอบในตู้อบ (hot air oven) ที่อุณหภูมิ $103 - 105^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 60 นาที ทำให้เย็นใน dessicator ทิ้งไว้ให้เย็น 30 นาที
2. นำ crucible ไปชั่งและบันทึกน้ำหนักที่คงที่ (A)
3. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 2-5 กรัม (W) ใส่ใน crucible ที่ทราบน้ำหนักแล้ว
ตัวอย่างความชื้นไม่เกิน 15% ใช้ 2-3 กรัม, ความชื้นต่ำกว่า 5% ใช้ 4 - 5 กรัม
4. นำ crucible และตัวอย่างไปอบใน ตู้อบที่อุณหภูมิ $103 - 105^{\circ}\text{C}$ นาน 5 ชั่วโมง
5. ทำให้เย็นใน dessicator ทิ้งไว้ให้เย็น 30 นาที แล้วนำไปชั่งและบันทึกน้ำหนัก นำตัวอย่างไปอบซ้ำ ในข้อ 4 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักคงที่ (B)
6. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{W-(B-A)}{W} \times 100$$

W

โดยที่ A : น้ำหนัก crucible (กรัม)

B : น้ำหนัก crucible และตัวอย่างอาหารหลังอบ (กรัม)

W : ตัวอย่างอาหารก่อนอบ (กรัม)

$$\% \text{ วัตถุแห้ง (dry matter)} = 100 - \% \text{ moisture}$$

หมายเหตุ ตัวอย่างที่อบแห้งแล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (Ash) ต่อไปได้

สรุปขั้นตอนการวิเคราะห์ความชื้นและวัตถุแห้ง

Determination of moisture and dry matter content

1. เตรียม crucible อบที่อุณหภูมิ $103 - 105^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เย็นใน dessicator ชั่งและบันทึกน้ำหนักที่คงที่ (A)
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 2-5 กรัม (W) ใส่ใน crucible
3. นำ crucible ตัวอย่างไปอบที่อุณหภูมิ $103 - 105^{\circ}\text{C}$ นาน 4 ชั่วโมง
4. ทำให้เย็นใน dessicator ชั่งและบันทึกน้ำหนัก นำตัวอย่างไปอบซ้ำ ในข้อ 3 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักคงที่ (B)

5. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(W - (B-A))}{W} \times 100$$

W

โดยที่ W : ตัวอย่างอาหารก่อนอบ (กรัม)

A : น้ำหนัก crucible (กรัม)

B : น้ำหนัก crucible และตัวอย่างอาหารหลังอบ (กรัม)

$$\% \text{ วัตถุแห้ง (dry matter)} = 100 - \% \text{ moisture}$$

การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Ash)

ปริมาณเถ้าทั้งหมด (total ash) ในอาหาร คือ สารอนินทรีย์ (inorganic matter) ที่เหลืออยู่หลังจากที่เผาตัวอย่างด้วยอุณหภูมิสูง เพื่อให้ส่วนประกอบที่เป็นสารอินทรีย์สลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ สารอนินทรีย์ที่เหลืออยู่คือประมาณแร่ธาตุที่มีอยู่ในอาหาร ซึ่งมีอยู่หลายชนิด บางชนิดมีปริมาณค่อนข้างมาก macroelements เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส เป็นต้น บางชนิดมีอยู่ในปริมาณน้อยมากเรียกว่า microelements เช่น อลูมิเนียม ทองแดง สังกะสี ไอโอดีน เป็นต้น แต่ปริมาณเถ้าที่มีอยู่ในอาหารมิใช่ปริมาณแร่ธาตุที่มีอยู่จริงในอาหาร เพราะแร่ธาตุบางตัวอาจสูญหายไปได้โดยการระเหย และบางส่วนอาจแปรสภาพโดยการทำปฏิกิริยากับสารประกอบอื่นในอาหาร (interaction) ขณะเผาด้วยความร้อนสูง โดยทั่วไปปริมาณเถ้าที่พบในอาหารมีค่าค่อนข้างคงที่ สำหรับอาหารชนิดนั้นๆ จึงสามารถใช้ปริมาณเถ้าเป็นเครื่องชี้คุณภาพของอาหารบางชนิดได้ อาหารที่ปริมาณเถ้าสูงกว่าปกติ อาจเนื่องจากอาหารนั้นถูกปลอมปน เช่น น้ำตาลทราย เครื่องเทศ แป้ง ขนไก่ กระดูกป่น เป็นต้น นอกจากนี้หากวิเคราะห์ให้ละเอียดถึงปริมาณแร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบในอาหาร ก็จะสามารถทราบข้อมูลอื่นๆ ได้อีก เช่น ในพืชสามารถบอกการแพร่กระจายของแร่ธาตุและบอกประเภทของดินที่ปลูกพืชนั้นๆ ได้

ปัจจัยที่ควรคำนึงในการวิเคราะห์เถา

จากหลักการวิเคราะห์เถาโดยการเผาตัวอย่างที่อุณหภูมิสูง เพื่อให้สารอินทรีย์ไหม้หมดไป ส่วนที่เหลือคือเถา ในการปฏิบัติจะต้องเผาโดยไม่ให้อากาศประกอบของเถาสลายตัวหรือสูญเสียสิ่งที่ระเหยง่ายไป (volatile substance) หากหลีกเลี่ยงไม่ได้ก็พยายามให้สูญเสียให้น้อยที่สุด ในการเผาจะต้องเผาจนได้สีของเถาสีสม่ำเสมอ และลักษณะของเถาต้องไม่จับกันเป็นก้อน ดังนั้นเพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาข้อผิดพลาดต่างๆ ดังนี้

การเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์เถา

ในการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีไขมันในปริมาณมาก ควรทำการเผาตัวอย่างนอกเตาเผาก่อน โดยใช้อุณหภูมิต่ำ เพื่อไล่ควันจากการเผาไหม้ไขมันออกให้หมดก่อน แล้วจึงนำเข้าไปในเตาเผา เพราะถ้าตัวอย่างโดยไม่ได้เผาไล่ควันก่อน เถาที่ได้จะมีสีดำ น้ำตาล เนื่องจากควันทำให้ยากแก่การพิจารณาการเผาไหม้ของตัวอย่างว่าเกิดการเผาไหม้ได้สมบูรณ์หรือไม่

ภาชนะที่ใช้ในการวิเคราะห์เถา

ควรเป็นภาชนะที่ทำจากแพลทินัม มีลักษณะกว้างตื้นก้นแบน มีความจุ 50 - 100 มิลลิลิตร จะเป็นจาน (Dish) หรือถ้วย (Crucible) ก็ได้คุณลักษณะ

1. เมื่อได้รับความร้อนจะไม่ร้อนทันทีทันใด จะค่อยเป็นค่อยไป
2. แพลทินัมไม่ทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบของเถาแต่ภาชนะที่ทำจากแพลทินัมมีราคาแพงดังนั้นอาจใช้ภาชนะประเภทอื่นแทนได้

ก. ภาชนะที่ทำจากซิลิกา ข้อเสีย มีการสูญเสียน้ำหนักเมื่อเผาด้วยตัวอย่างบางชนิดที่จำเป็นต้องเติมน้ำ : โซเดียมไฮดรอกไซด์

ข. ภาชนะที่ทำจากนิกเกิล มีข้อเสียคือ นิกเกิลอาจทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบบางอย่างของเถาและเมื่อเผาตัวอย่างที่มีคาร์บอนอยู่สูงจะทำให้เปราะได้

ค. ภาชนะที่ทำด้วยพอร์ซเลน มีข้อเสีย คือเมื่อเผาคิดต่อกันหลายๆ ครั้ง จะสูญเสียน้ำหนัก และหากจะใช้สำหรับความเป็นค่าของเถามักจะทำให้ค่าที่ผิดพลาดได้ เพราะจานหรือถ้วยชนิดนี้มีความเป็นด่างอยู่ในตัว

อุณหภูมิในการเผาเถ้า

หลังการเผาไควันแล้วออกหมดแล้ว จึงนำตัวอย่างไปเผาในเตาเผาเถ้า อุณหภูมิที่ใช้ 500-550°C สำหรับตัวอย่างประเภทเนื้อสัตว์ ส่วนอาหารสัตว์สามารถใช้อุณหภูมิได้สูงถึง 650°C ปัญหาที่อาจเกิดจากระดับของอุณหภูมิที่สูงเกินไป จะทำให้สารบางชนิดระเหยได้ เช่น โปแตสเซียมคลอไรด์ โปแตสเซียมออกไซด์สูญเสียไป นอกจากนั้นอาจทำให้เถ้าหลอมตัวจับคาร์บอนไว้ ทำให้คาร์บอนไฮเดรตไม่ถูกเผา การเผาไหม้จึงไม่สมบูรณ์มีสารอินทรีย์เหลืออยู่ ค่าที่ได้ผิดไปจากความเป็นจริง ที่ระดับอุณหภูมิสูงเกิน 550°C โปแตสเซียมคลอไรด์ และโซเดียมคลอไรด์ จะระเหยออกไปซ้ำๆ และแคลเซียมคาร์บอเนตจะถูกเปลี่ยนให้เป็นแคลเซียมออกไซด์ นอกจากนี้ยังอาจเกิดการหลอมจับตัวเป็นก้อนของฟอสเฟต

ระยะเวลาในการเผา สำหรับตัวอย่างอาหารสัตว์ใช้ระยะเวลาในการเผาเถ้าประมาณ 2 ชั่วโมงโดยเผาจนได้เถ้าสีเทาอ่อนหรือสีขาวสม่ำเสมอและได้น้ำหนักคงที่ ตัวอย่างที่มีฟอสฟอรัสสูงเถ้าที่ได้อาจจับกันเป็นก้อน เพราะเกิดเมตาฟอสเฟตซึ่งมีลักษณะใสคล้ายแก้ว แก้ไขโดยปล่อยให้เถ้าเย็นหรือพอร้อนๆ แล้วละลายเถ้าด้วยน้ำกลั่นร้อน และกรองด้วยกระดาษกรองที่ตะกอนหรือเถ้าผ่านไม่ได้ (ashless filter paper) เก็บส่วนที่กรองได้ไปเผาใหม่จนเป็นสีเทาอ่อนหรือสีขาวสม่ำเสมอ ทิ้งให้เย็นแล้วเติมสิ่งที่กรองลงไปประหยัให้แห้ง จากนั้นจึงนำไปเผาในเตาเผาจนได้เถ้าสีเทาอ่อนหรือสีขาวสม่ำเสมอ

นอกจากนี้หากต้องการเผาเถ้าให้สมบูรณ์อาจร่นระยะในการเผาลงได้โดยการนำเถ้าที่เผายังไม่ได้ที่ทิ้งให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่นให้เปียก ผสมให้เข้ากันนำไปประหยัน้ำออกด้วยความร้อนต่ำ เพื่อป้องกันการประทุขึ้นเป็น สาเหตุที่อาจทำให้เกิดการสูญเสียได้จากนั้นจึงนำไปเผาจนได้สีตามต้องการสม่ำเสมอ นอกจากนี้เราสามารถเร่งปฏิกิริยาโดยการเติมสารเร่งเช่น แคลเซียมคาร์บอเนต แมกนีเซียมไนเตรต แอมโมเนียมคาร์บอเนตและกรดไนตริก สารช่วยเร่งดังกล่าวจะทำให้ได้เถ้าเร็วขึ้น และในการเผาเถ้าเพื่อวิเคราะห์คลอไรด์อ็อกไซด์ ควรเติมโซเดียมคาร์บอเนตเพื่อช่วยจับคลอไรด์มิให้สูญเสียไปในระหว่างการเผา หากตัวอย่างที่เผาเกิดฟองมากในระหว่างการเผาให้เติมน้ำมันมะกอกลงไป จะช่วยลดฟองได้ และในกรณีที่ตัวอย่างที่เผาไม่สม่ำเสมอ เนื่องจากเถ้าที่ได้มีคาร์บอนติดอยู่ ให้เติมสารละลายแอมโมเนียมคาร์บอเนตลงไป แล้วนำไปเผาใหม่จะช่วยกำจัดคาร์บอนออกไปได้ สำหรับตัวอย่างที่มีความเป็นด่างสูง มักพบว่าในระหว่างการวิเคราะห์เถ้าจะเกิดการสลายตัวขององค์ประกอบอย่างรวดเร็ว และถ้าที่ได้สามารถดูดน้ำได้ดี จึงเป็นการยากที่จะชั่งให้ได้น้ำหนักที่ถูกต้อง โดยเถ้าที่ได้มีลักษณะเบาและเป็นฝุ่น จึงอาจสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเผาและชั่ง

การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า

วิธีการ

วิเคราะห์ปริมาณเถ้าทั้งหมด (total ash) โดยการเผาในเตาเผา (muffle furnace)

หลักการ

ปริมาณเถ้าทั้งหมด ในอาหารคือสารอินทรีย์ (inorganic matter) ที่เหลืออยู่หลังที่เผาด้วยความร้อนสูง 550-600°C ทำให้สารอินทรีย์สลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ สารอินทรีย์นำประกอบด้วยแร่ธาตุหลายชนิด แต่ไม่ใช่ค่าที่แสดงปริมาณแร่ธาตุทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหาร เพราะแร่ธาตุบางตัวอาจสูญหายไปได้โดยการระเหย บางส่วนแปรสภาพโดยการทำปฏิกิริยากับสารประกอบอื่นในอาหาร (interaction) ขณะเผาด้วยความร้อนสูงโดยทั่วไป ปริมาณเถ้าที่พบในอาหารจะค่อนข้างคงที่ สำหรับอาหารชนิดนั้นๆ จึงสามารถใช้ปริมาณเถ้าเป็นเครื่องชี้คุณภาพของอาหารชนิดนั้นๆ ได้ อาหารที่มีปริมาณเถ้าสูงกว่าปกติอาจเนื่องจากอาหารนั้นถูกปลอมปน เช่น อาหารพวกเครื่องเทศ เกลาดิน น้ำตาลทราย แป้ง เป็นต้น ดังนั้นปริมาณเถ้าที่วิเคราะห์ได้ ควรอยู่ในช่วงที่เหมาะสม

อุปกรณ์

1. ถ้วยกระเบื้อง (silica or crucible)
2. เตาเผา (muffle furnace)
3. โถดูดความชื้น (dessicator)
4. ตู้ดูดควัน (fume hood)
5. เครื่องชั่งโดยละเอียด (0.000 กรัม Balance)
6. แผ่นให้ความร้อน (hot plate)
7. คีมคีบของร้อน (forceps)

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าทั้งหมด

1. 1. เตรียม crucible โดยเผาที่สะอาดและแห้งในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 - 600°C นาน 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นใน dessicator ชั่งน้ำหนักของถ้วยกระเบื้อง ทำซ้ำ 1 - 2 ครั้ง จนได้น้ำหนักคงที่ (A)
2. ชั่งตัวอย่าง 2 - 5 กรัม ใส่ใน crucible บันทึกน้ำหนักตัวอย่าง (W) หรือใช้ตัวอย่างที่หาความชื้นแล้ว มาวิเคราะห์เถ้าต่อไป (W)
3. นำตัวอย่างไปเผาไล่ควันจนหมดบน hot plate จนหมดควันเพื่อให้ตัวอย่างเกาะกันเป็นก้อนไม่ฟุ้งกระจาย แล้วจึงนำไปเผาในเตาเผา
4. นำ crucible พร้อมตัวอย่างไปเผาที่อุณหภูมิ 550 - 600°C นาน 4 ชั่วโมง จนได้เถ้ามีขาวสม่ำเสมอ
5. เมื่อครบ 4 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในเตาเผา จนอุณหภูมิลดต่ำกว่า 200°C จากนั้นนำออกใส่ใน dessicator นาน 30 นาที แล้วนำไปชั่ง และบันทึกน้ำหนัก (B)
6. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์เถ้าจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า} = \frac{(B-A) \times 100}{W}$$

โดยที่ A : น้ำหนัก crucible

B : น้ำหนัก crucible และตัวอย่างอาหารหลังอบ

W : น้ำหนักตัวอย่าง

สรุปขั้นตอนการวิเคราะห์หาเยื่อใย

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยแบบ gravimetric (classical fiber) method

หลักการวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยในตัวอย่างอาหารที่ต้องการวิเคราะห์โดยใช้กรดอ่อนและด่างอ่อน ด้วยการละลายสารอินทรีย์ส่วนที่สัตว์สามารถย่อยได้ออกจากตัวอย่าง (NFE) ส่วนที่เหลือคือสารอินทรีย์ที่ย่อยไม่ได้ (เยื่อใย) และสารอนินทรีย์ นำส่วนที่เหลือไปเผาเถ้า จะได้ปริมาณสารอนินทรีย์ที่มีในตัวอย่างอาหาร ปริมาณสารอินทรีย์ที่หายไปจากการเผาเถ้า คือปริมาณเยื่อใยในตัวอย่างอาหาร

อุปกรณ์

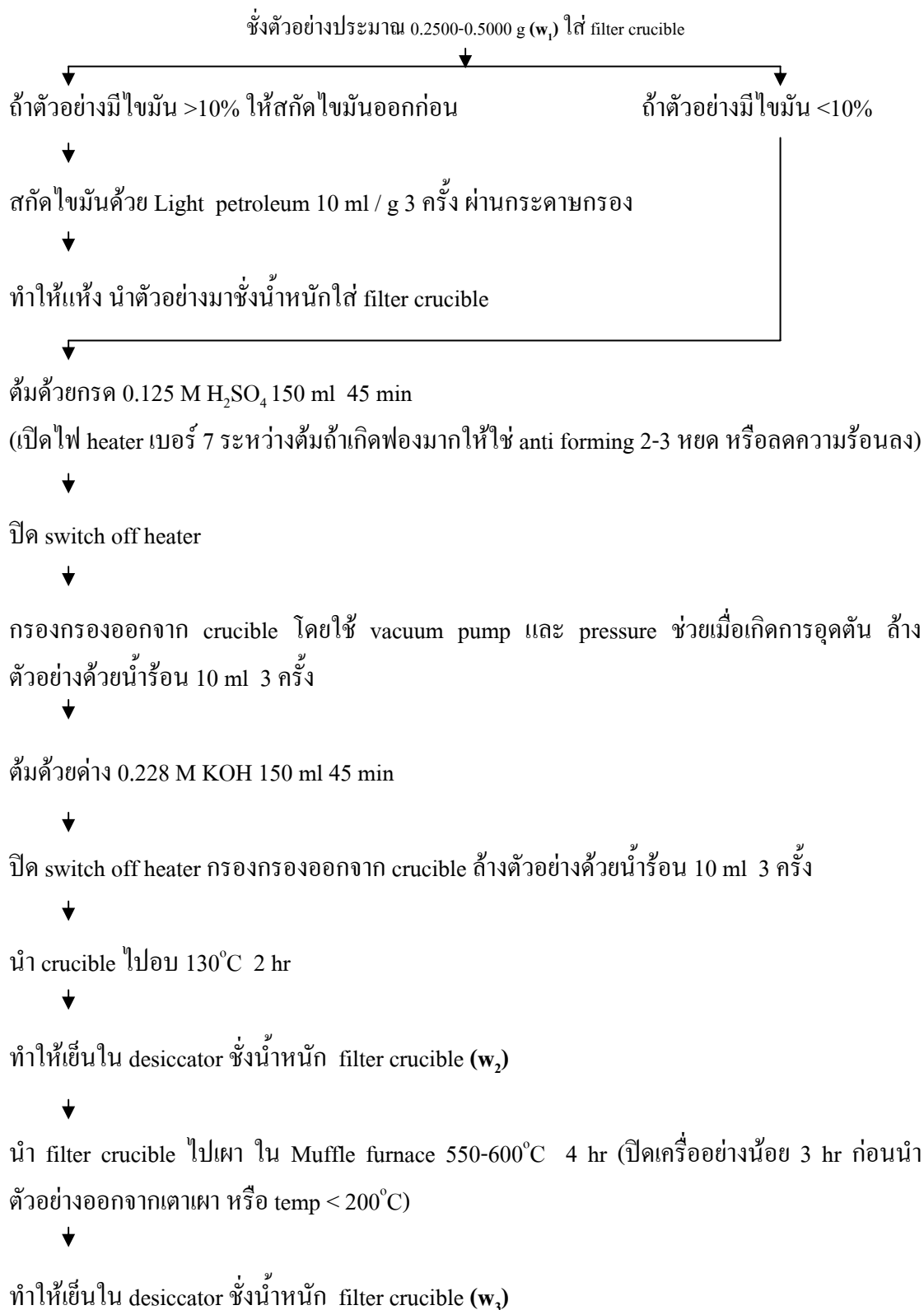
1. เครื่องย่อย fiber
2. Analytical balance (at least 0.1 mg)
3. Filter crucible (quartz or hard glass) pore size 40-100 μm
4. Hot plate
5. Dessicator
6. Muffle furnace

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง (W1) น้ำหนัก 0.25-0.30 กรัม ใส่ใน crucible นำไปวางบน crucible stand
2. นำ crucible ใส่ในเครื่องย่อย (hot extraction unit)
3. เติมกรดซัลฟูริกร้อน 0.128 M 150 มิลลิลิตร ต้มตัวอย่างจนเดือด แล้วจับเวลาประมาณ 45 นาที
4. กรองสารจนแห้งแล้วล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง กรองจนแห้ง
5. เติม KOH ที่ร้อน 0.223 M 150 มิลลิลิตร ต้มจนเดือดจับเวลา 30 นาที กรองแล้วล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง
6. นำ crucible ออกจากเครื่องย่อย ไปอบที่ 103 °C 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน dessicator ชั่งน้ำหนัก (W₂)
7. เผาตัวอย่างใน crucible ที่อุณหภูมิ 550 - 650 °C 4 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในเตาเผา
8. ทิ้งให้เย็นโดยนำ crucible ใส่ dessicator ทิ้งให้เย็น ชั่งน้ำหนัก (W₃)
9. คำนวณปริมาณเชื้อใย

$$\text{เปอร์เซ็นต์เชื้อใย} = \frac{(W_2 - W_3)}{W_1} \times 100$$

Determination of crude fiber content – Semi-automatic method





Calculation the crude fiber of the test sample

$$W_f = \frac{(W_2 - W_3)}{W_1} \times 100$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักตัวอย่าง (g)

W_2 = น้ำหนัก crucible หนักอบ 130°C

$W_3 = w_2$ = น้ำหนัก crucible หนักเผา 600°C

ภาคผนวก ค

ตารางคุณภาพน้ำระหว่างการทดลอง

วันที่	DO (mg/L)		pH		Temp (°C)	
	เช้า(06.00)	บ่าย	เช้า	บ่าย	เช้า(06.00)	บ่าย (15.00)
		(15.00)	(06.00)	(15.00)		
1	3.65	7.73	7.25	8.46	30	34
2	3.44	7.85	7.28	8.42	30	35
3	3.66	7.89	7.38	8.45	31	35
4	3.51	7.61	7.28	8.43	30	36
5	3.32	7.54	7.23	8.38	30	35
6	3.55	7.74	7.35	8.41	29	35
7	3.62	7.69	7.31	8.46	30	34
8	3.45	7.72	7.36	8.44	30	35
9	3.54	7.65	7.34	8.41	31	36
10	3.62	7.83	7.25	8.48	30	34
11	3.44	7.71	7.29	8.4	29	36
12	3.55	7.67	7.35	8.41	30	35
13	3.53	7.72	7.27	8.43	30	35
14	3.35	7.74	7.38	8.48	30	35
15	3.49	7.81	7.22	8.43	31	35
16	3.58	7.82	7.26	8.45	30	36
17	3.52	7.65	7.35	8.46	30	34
18	3.61	7.55	7.25	8.42	30	35
19	3.56	7.68	7.37	8.45	30	36
20	3.58	7.85	7.35	8.46	30	35
21	3.47	7.84	7.25	8.41	30	35

ตารางคุณภาพน้ำระหว่างการทดลอง (ต่อ)

ช่วงเวลา ที่เก็บตัวอย่าง	จุดเก็บ ตัวอย่าง	Alkalinity (mg/l)	Hardness (mg/l)	NH ₃ (mg/l)
สัปดาห์ที่ 1	1	174	158	0.146
	2	167	154	0.134
	3	169	156	0.128
	4	164	155	0.121
สัปดาห์ที่ 2	1	168	162	0.127
	2	162	167	0.137
	3	166	163	0.127
	4	161	168	0.122
สัปดาห์ที่ 3	1	193	165	0.147
	2	172	175	0.151
	3	173	172	0.132
	4	165	174	0.142
สัปดาห์ที่ 4	1	168	172	0.152
	2	170	174	0.145
	3	166	175	0.126
	4	164	171	0.123