# บทที่ 3

# การทดลอง

## 3.1 วัสดุอาหาร

| | |
|---|---|
| Lactic casein | food grade (บริษัท White Groups จำกัด) |
| Glucose | food grade |
| Sucrose | commercial grade (บริษัท น้ำตาลมิตรผล จำกัด) |
| α-starch | commercial grade (บริษัท Thai Modified Starch จำกัด |
| Fish oil | commercial grade |
| Sodium citrate | commercial grade |
| Sodium succinate | A.R. |
| Glucosamine hydrochloride | A.R. |
| Potassium hydrogenphosphate | A.R. |
| Calcium phosphate | commercial grade |
| Magnesium sulphate | commercial grade |
| Sodium dihydrogenphosphate | A.R. |
| Vitamin mix | (บริษัท พี.เว็ต. จำกัด) |
| Cholesterol | commercial grade |
| Soybean lecithin | commercial grade |
| Cellulose | Solka-Floc grade BW-2030 |
| Kappa carrageenan | commercial grade |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 อาหารสำเร็จรูปที่ผลิตเชิงการค้า

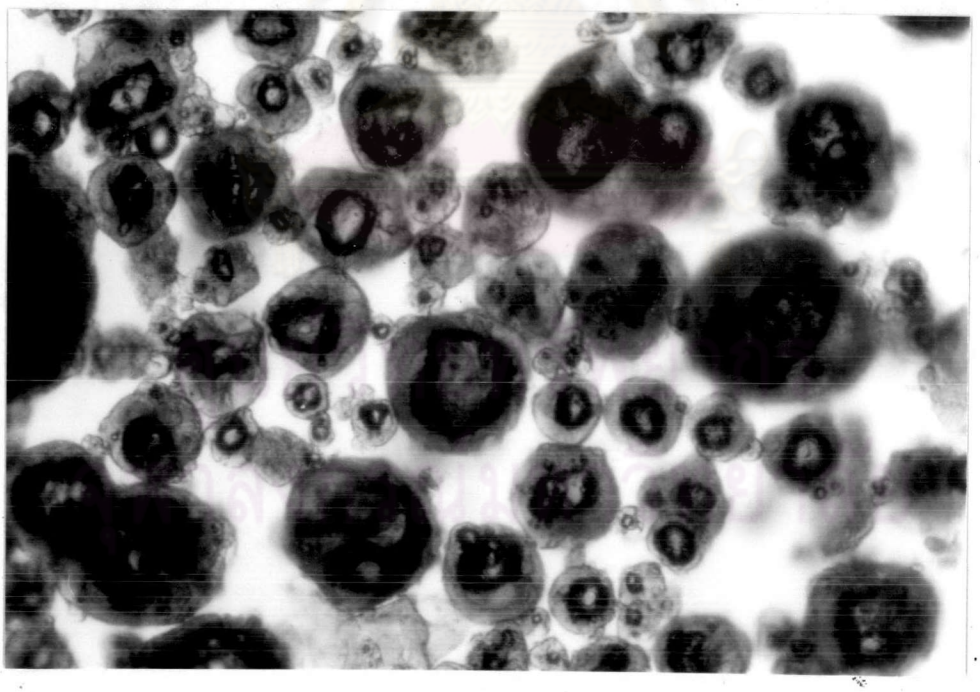
อาหารสำเร็จรูปที่ผลิตเชิงการค้าที่ใช้เป็นมาตรฐานเปรียบเทียบกับอาหารที่ผลิตขึ้น ประกอบด้วย fish meal, egg meal, skim milk, fish protein, liver meal, choline chloride, inositol, niacin, vitamin C, B6, B12, B1, E, biotin และเกลือแร่ ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของอาหารมีดังนี้

| | | | |
|---|---|---|---|
| ปริมาณโปรตีน | มากกว่า | 50 | % |
| ปริมาณไขมัน | มากกว่า | 24 | % |
| ปริมาณเถ้า | น้อยกว่า | 10 | % |
| ปริมาณเส้นใย | น้อยกว่า | 1 | % |
| ปริมาณความชื้น | น้อยกว่า | 8 | % |

กำหนดวันหมดอายุของอาหารดังกล่าวคือเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2534 และใช้อาหารนี้เลี้ยงลูกกุ้งเพื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ผลิตขึ้นเองในเดือนกรกฎาคมและกันยายน พ.ศ. 2533 ลักษณะปรากฏและอนุภาคอาหารแสดงดังรูปที่ 3 และ 4

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3 ลักษณะปรากฏของอาหารสำเร็จรูปที่ผลิตเชิงการค้า



รูปที่ 4 ลักษณะอนุภาคอาหารสำเร็จรูปที่ผลิตเชิงการค้า
จากกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100 เท่า

3.3 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

| | |
|---|---|
| Sulfuric acid | A.R. |
| Boric acid | A.R. |
| Potassium hydrogenphthalate | A.R. |
| Methyl red | A.R. |
| Methylene blue | A.R. |
| Sodium hydroxide | A.R. |
| Kjeltab($K_2SO_4$:Seในอัตราส่วน1000:1) | (บริษัท สิทธิพรแอสโซซิเอส จำกัด) |
| Petroleum ether | A.R. |

สารเคมีที่ใช้ในการหาค่า TBA

| | |
|---|---|
| 2-Thiobarbituric acid | A.R. |
| Glacial acetic acid | A.R. |
| Hydrochloric acid | A.R. |

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์วิตามินซี

| | |
|---|---|
| Oxalic acid | A.R. |
| 2,6-Dichlorophenolindophenol sodium salt (dihydrate) | A.R. |
| Ascorbic acid | A.R. |

สารเคมีที่ใช้ในการบรรจุ

| | |
|---|---|
| กาซไนโตรเจน | (บริษัท รัตนโชคเทรดดิ้ง จำกัด) |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4 อุปกรณ์ในการเตรียมและวิเคราะห์คุณภาพอาหาร

ตู้อบแบบมีลมเป่าผ่าน (Binder, F115)

ตู้อบแบบสุญญากาศ (Hotpack model 273600 serial 71584)

ปั๊มสุญญากาศ (Pfeiffer Balzers Type DUO 004 B)

เครื่องควบแน่น (Jupiter )

Freeze dryer (Virtis Gardiner N.Y. 12525)

เครื่องอบแห้งแบบพ่นกระจาย (ห้างหุ้นส่วนจำกัด ณรงค์ชัยกลการ) (รูปที่ 5)

Mirco tube pump (Eyela Type MP-3)

เครื่องบดอาหาร (Moulinex Type 320 code 2.25) (รูปที่ 6)

เครื่องผสมอาหาร (Moulinex Type 588 code 210) (รูปที่ 6)

เครื่องเขย่าแบบตะแกรงร่อน (Retsch Type Vibro)

เครื่องปิดผนึก (Multivac Type AG500)

เครื่องบดแบบ pin mill (Shangtung Chimo Agricultural Machinery Work, FFG-23)

เครื่องปั่นอาหารความเร็วสูง (Waring Blender, 328-L79)

เครื่องชั่งละเอียด (Sartorius, A200S)

เครื่องชั่งหยาบ (Sartorius, B3100S)

ชุดย่อย-กลั่นโปรตีน (Kjeldaltherm และ Vadopest 1, Gerhardt, KT85)

ชุดสกัดไขมัน (Gerhardt Soxtherm Automatic, S-166)

ชุดวิเคราะห์เส้นใยซึ่งประกอบด้วย hot plate (Gerhardt, RF16/6) พร้อม round condenser

Muffle Furnace (Carbolite, MEL11-2)

อุปกรณ์หาความชื้น (Sartorius Thermo Control, YTE01L)

Ultracentrifugal mill (Retsch, ZM1)

UV-Visible Recording Spectrophotometer (Shimadzu, UV-240)

3.5 อุปกรณ์เลี้ยงลูกกุ้งวัยอ่อน (รูปที่ 7)

สายอากาศ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.4 เซนติเมตร

โคน ทำจากขวด PET บรรจุน้ำอัดลมขนาด 1.25 ลิตร

ลังไม้ขนาด 15.5"x40.0"x18.0"

หลอดแก้ว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร ยาว 20 เซนติเมตร

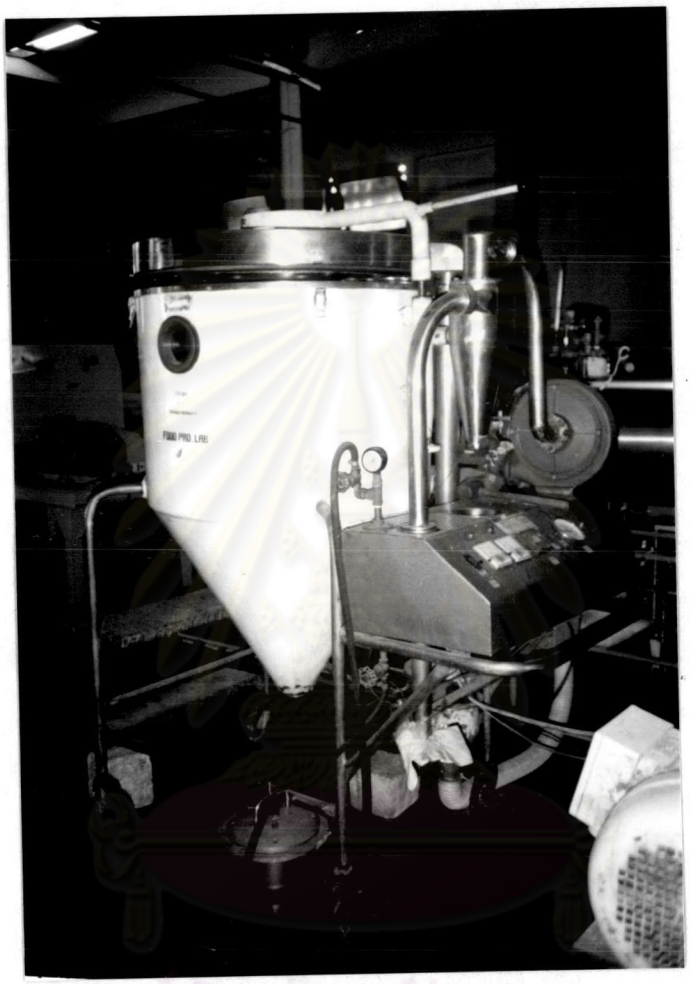
Control Valve

3.6 วัสดุภาชนะบรรจุ

ถุง Laminated Foil (OPP/PE/Al/PE/PE film) ขนาด 17.0x19.5 เซนติเมตร หนา 0.080 มิลลิเมตร

ถุง Eval Film ขนาด 14.0x23.5 เซนติเมตร หนา 0.075 มิลลิเมตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5 เครื่องอบแห้งแบบพ่นกระจาย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 6 เครื่องผสมอาหาร Moulinex (ซ้าย) และเครื่องบดอาหาร Moulinex (ขวา)

รูปที่ 7 อุปกรณ์เลี้ยงลูกกุ้งวัยอ่อน

3.7 การผลิตอาหารลูกกุ้งวัยอ่อน

ผลิตอาหารลูกกุ้งวัยอ่อนด้วยกรรมวิธี microparticulation โดยใช้สูตรอาหารของ Teshima และ Kanazawa (6)

3.7.1 ส่วนประกอบและปริมาณสารอาหารลูกกุ้งวัยอ่อน

| ส่วนประกอบ | ปริมาณ (กรัม/อาหาร100 กรัม) |
|---|---|
| casein | 55 |
| carbohydrate (glucose:sucrose:α-starch = 5.5:10:4) | 15 |
| fish oil | 6 |
| Na-citrate | 0.3 |
| Na-succinate | 0.3 |
| glucosamine-HCl | 0.8 |
| mineral mix | 8.6 |
| vitamin mix | 3.9 |
| cholesterol | 1 |
| soybean lecithin | 3 |
| cellulose | 6.1 |
| รวม | 100 กรัม |
| K-carrageenan | 5 กรัม |

mineral mix ประกอบด้วยแร่ธาตุต่าง ๆ ในปริมาณดังนี้

| แร่ธาตุ | ปริมาณ (กรัม/อาหาร 100 กรัม) |
|---|---|
| $K_2HPO_4$ | 2.000 |
| $Ca_3(PO_4)_2$ | 2.720 |
| $MgSO_4\ 7H_2O$ | 3.041 |
| $NaH_2PO_4\ 2H_2O$ | 0.790 |
| รวม | 8.551 กรัม |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

vitamin mix มีส่วนประกอบและปริมาณดังต่อไปนี้ คือ

| ชนิดของ vitamin | ปริมาณ (mg/อาหาร 100 กรัม) |
|---|---|
| P-amino benzoic acid | 10.0 |
| biotin (0.1%) | 0.4 |
| inositol | 400.0 |
| nicotinic acid | 40.0 |
| Ca-pantothenate | 60.0 |
| pyridoxin | 12.0 |
| riboflavin | 8.0 |
| thiamine-HCl | 4.0 |
| cyanocobalamine (0.1%) | 0.08 |
| Na-ascorbate | 2000.0 |
| folic acid | 0.8 |
| choline-Cl (50%) | 600.0 |
| vitamin $K_3$ | 4.0 |
| β-carotene | 9.6 |
| α-tocopherol (50%) | 20.0 |
| calciferol | 1.2 |
| รวม | 3889.6 มิลลิกรัม |

3.7.2 กรรมวิธีผลิต ดัดแปลงจากวิธีของ Sutjaritvongsanon (16) ซึ่งเริ่มจากการบดส่วนประกอบอาหารให้เป็นผงละเอียดขนาดเล็กกว่า 45 ไมครอน ด้วยเครื่อง Ultracentrifugal Mill โดยใช้ตะแกรงขนาด 0.08 มิลลิเมตร และนำไปร่อนผ่านตะแกรงขนาด 45 ไมครอนด้วยเครื่องเขย่าแบบตะแกรงร่อน ผสมแร่ธาตุทั้งหมดตามสัดส่วนก่อนนำส่วนผสมทั้งหมดมาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องบด Moulinex ซึ่งมีความเร็ว 12,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 1 นาที แล้วผสมในเครื่องผสมอาหาร Moulinex ที่มีความเร็วรอบ 3,200 รอบ/นาทีเป็นเวลา 5 นาที ขณะผสมค่อย ๆ เติมน้ำจนครบ 300 มิลลิลิตร และเติม vitamin mix ที่ละลายในน้ำปริมาณ 50 มิลลิลิตร จากนั้นเทอาหารลงในบีกเกอร์และนำไปให้ความร้อนใน water bath ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส จน carrageenan ละลายหมด เทอาหารลงในถาดอลูมิเนียมขนาด 33.5x24.5 เซนติ-

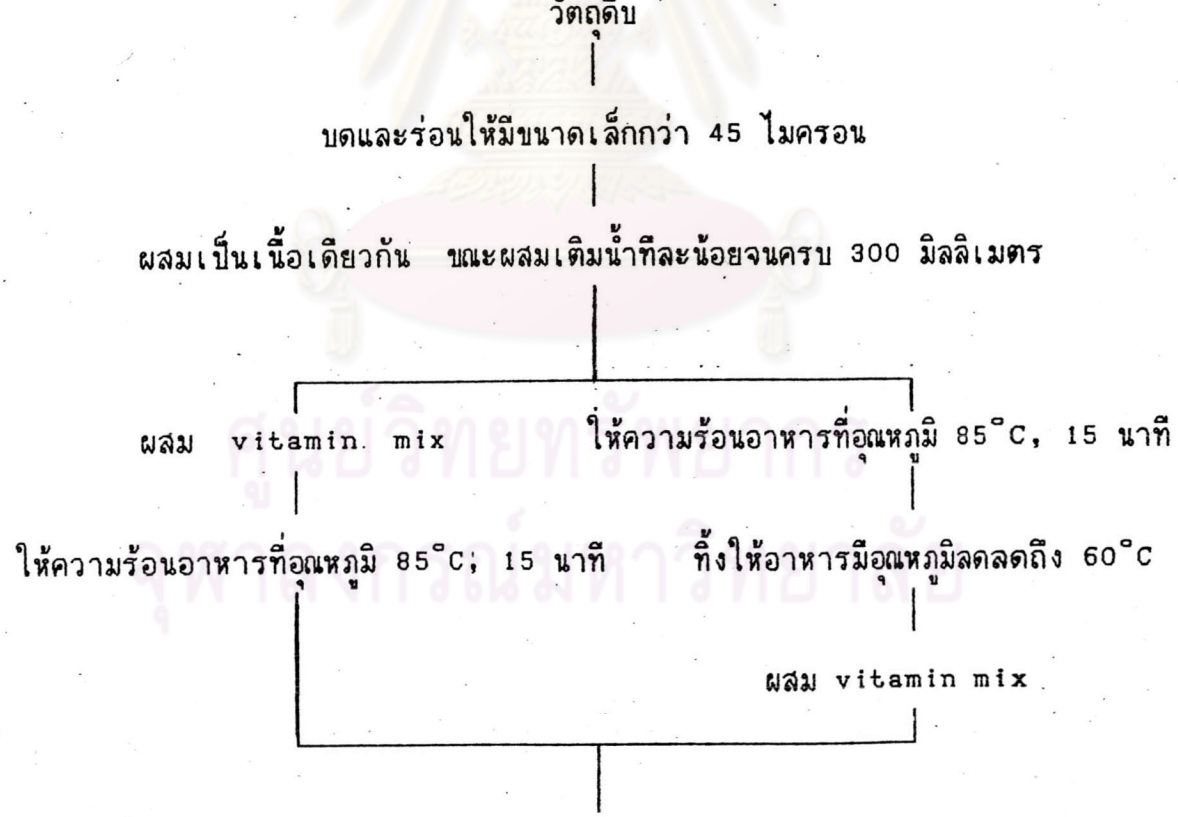
เมตร เมื่ออาหารแข็งตัวนำไปอบแห้ง แล้วบดด้วยเครื่องบดแบบ pin mill และร่อนอาหารด้วยเครื่องเขย่าแบบตะแกรงร่อนให้มีขนาดอนุภาค 53 ไมครอน, 53-125 ไมครอน และ 125-250 ไมครอน ในอัตราส่วน 2:2:1 โดยปริมาณ โดยใช้ตะแกรงร่อนขนาด 500, 250, 125 และ 53 ไมครอน ตามลำดับ

3.8 ศึกษาวิธีผสม vitamin mix ในสูตรอาหาร

3.8.1 แปรการผสม vitamin mix ในสูตรอาหารเป็น 2 วิธี คือ

วิธีที่ 1 เติมสารละลาย vitamin mix ในเครื่องผสมอาหาร Moulinex หลังจากผสมอาหารไปแล้ว 2 นาที ผสมต่อไปจนครบ 5 นาทีที่อุณหภูมิห้อง (30°C) ให้ความร้อนอาหารด้วย water bath ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส จน carrageenan ละลายหมด ซึ่งใช้เวลาประมาณ 15 นาที จากนั้นเทอาหารลงในถาด

วิธีที่ 2 ผสมสารละลาย vitamin mix ในอาหาร หลังจากให้ความร้อนอาหารเหลวที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส จน carrageenan ละลายหมด และอาหารมีอุณหภูมิลดลงจนถึง 60 องศาเซลเซียสแล้ว โดยคนให้เข้ากัน จากนั้นเทอาหารลงในถาด




รูปที่ 8 แผนภูมิแสดงการผสม vitamin mix ในสูตรอาหาร

3.8.2 วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีที่เหลืออยู่ในอาหารทุกตัวอย่างด้วยวิธี indophenol (34) โดยสุ่มจากตำแหน่งต่าง ๆ ของถาด 5 ตำแหน่ง ดังรูปที่ 9 เพื่อวิเคราะห์ความสม่ำเสมอในการกระจายของวิตามินในอาหาร และเลือกวิธีผสมอาหารที่เหมาะสมที่สุด

รูปที่ 9 ตำแหน่งบนภาชนะบรรจุที่ใช้ในการสุ่มตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์

3.8.3 วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial experiment ขนาด 2x5 ทดลอง 4 ซ้ำ

3.9 ศึกษาสภาวะอบแห้งอาหาร

อบแห้งอาหารด้วยวิธีทำแห้ง 4 แบบ คือ การอบแห้งด้วยตู้อบแบบมีลมเป่าผ่าน การอบแห้งด้วยตู้อบแบบสุญญากาศ การทำแห้งโดยวิธี freeze drying และการอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบพ่นกระจาย โดยมีรายละเอียดของแต่ละวิธีดังนี้

3.9.1 การอบแห้งด้วยตู้อบแบบมีลมเป่าผ่าน

เตรียมอาหารจากวิธีผสมที่เลือกจากข้อ 3.8 เมื่ออาหารในถาดแข็งตัว ตัดอาหารให้เป็นชิ้นขนาด 4x4 มิลลิเมตร แล้วเกลี่ยอาหารซึ่งมีน้ำหนักประมาณ 390 กรัม ลงบนตะแกรงขนาด 33.5x24.5 เซนติเมตรซึ่งมีรูตะแกรงขนาด 16 mesh ให้สม่ำเสมอทั่วทั้งตะแกรง อาหารจะมีความหนาประมาณ 0.5 เซนติเมตร นำไปอบแห้งในตู้อบแบบมีลมเป่าผ่านที่มีความเร็วลม 0.25-0.70 เมตร/นาที และเปิดช่องระบายอากาศทั้งหมด แปรอุณหภูมิในการอบเป็น 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส

เลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมในการอบ โดยพิจารณาจากเวลาที่ใช้ในการอบแห้งจนอาหารมีความชื้น 7% ซึ่งทำได้โดยอบแห้งอาหาร ที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างอาหารที่ตำแหน่งต่าง ๆ ของตะแกรงทุกครึ่งชั่วโมง จนอาหารมีความชื้นต่ำกว่า 7 % วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (ดัดแปลงจากวิธีวิเคราะห์ของ AOAC-7.007 รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก1) ที่แต่ละเวลาอบแห้งแล้วเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความชื้นกับเวลาในการอบแห้ง จากนั้นประมาณเวลาในการอบแห้งจนอาหารมีความชื้น 7% จากกราฟดังกล่าว อบแห้งอาหารตามเวลาที่ประมาณได้ที่แต่ละอุณหภูมิ วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี (34)ในอาหารทุกตัวอย่าง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized design (CRD) ทดลอง 2 ซ้ำ

3.9.2 <u>การอบแห้งด้วยตู้อบสุญญากาศ</u>

เตรียมอาหารจากวิธีผสมที่เลือกจากข้อ 3.8 เมื่ออาหารในถาดแข็งตัว ตัดอาหารให้เป็นชิ้นขนาด 4x4 มิลลิเมตร แล้วเกลี่ยอาหารซึ่งมีน้ำหนักประมาณ 390 กรัม ลงบนตะแกรงขนาด 28.0x21.5 เซนติเมตรซึ่งมีรูตะแกรงขนาด 16 mesh ให้สม่ำเสมอทั่วทั้งตะแกรง อาหารจะมีความหนาประมาณ 0.6 เซนติเมตร นำไปอบแห้งในตู้อบสุญญากาศซึ่งต่อกับปั๊มสุญญากาศและเครื่องควบแน่น ระบบจะทำให้ภายในตู้อบเป็นสุญญากาศตลอดเวลาการอบแห้งที่ความดันสุญญากาศ 30 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว แปรอุณหภูมิในการอบแห้งเป็น 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส

เลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมในการอบแห้ง โดยพิจารณาจากเวลาที่ใช้ในการอบแห้งอาหารจนมีความชื้น 7% ซึ่งทำโดยอบแห้งอาหารที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างอาหารที่ตำแหน่งต่าง ๆ ของตะแกรงทุกหนึ่งชั่วโมงจนอาหารมีความชื้นต่ำกว่า 7 % วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (ดัดแปลงจากวิธีวิเคราะห์ของ AOAC-7.007 รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก1) ที่แต่ละเวลาอบแห้งแล้วเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความชื้นกับเวลาในการอบแห้ง จากนั้นประมาณเวลาในการอบแห้งจนอาหารมีความชื้น 7% จากกราฟดังกล่าว อบแห้งอาหารตามเวลาที่ประมาณได้ที่แต่ละอุณหภูมิ วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี (34)ในอาหารทุกตัวอย่าง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized design ทดลอง 2 ซ้ำ

3.9.3 การอบแห้งโดยวิธี Freeze drying

เตรียมอาหารจากวิธีผสมที่เลือกจากข้อ 3.8 เมื่ออาหารในถาดแข็งตัว ปิดด้วย aluminium foil ที่กรีดเป็นรอยขาดทั่วทั้งแผ่น เพื่อให้น้ำแข็งระเหิดออกได้สะดวก และถาดที่ใช้ในการอบแห้งแบบนี้จะต้องมีผิวเรียบเพื่อให้การถ่ายเทความร้อนมีประสิทธิภาพ นำอาหารเข้าอบใน freeze dryer ตั้งอุณหภูมิต่ำสุดของการแช่เยือกแข็งเป็น -40 องศาเซลเซียส ซึ่งจะใช้เวลาในขั้นตอนการแช่เยือกแข็งอาหารประมาณ 2-2.5 ชั่วโมง อาหารจะมีอุณหภูมิเยือกแข็งอยู่ในช่วง -32 ถึง -38 องศาเซลเซียส ก่อนเข้าสู่ขั้นตอนการระเหิด แปรอุณหภูมิในการระเหิดน้ำแข็งออกจากอาหารเยือกแข็งเป็น 2 ระดับ คือ 32 และ 38 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการอบแห้งทั้งหมดคงที่เป็น 24 ชั่วโมง

เกณฑ์ในการตัดสินเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสม ได้แก่ ปริมาณวิตามินซีที่เหลืออยู่ในอาหาร (34) และปริมาณความชื้นของอาหาร (ดัดแปลงจากวิธีวิเคราะห์ของ AOAC -7.007 รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก1)

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized design ทดลอง 2 ซ้ำ

3.9.4 การอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบพ่นกระจาย

เตรียมอาหารจากวิธีผสมที่เลือกจากข้อ 3.8 แล้วให้ความร้อนด้วย water bath ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียสจน carrageenan ละลายหมด นำไปป้อนเข้าเครื่องอบแห้งแบบพ่นกระจายด้วยอัตราเร็ว 33 มิลลิลิตรต่อนาทีซึ่งควบคุมด้วย micro tube pump ขณะป้อนรักษาระดับอุณหภูมิอาหารส่วนที่เหลือโดยแช่ภาชนะบรรจุอาหารใน water bath ที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 85 องศาเซลเซียสตลอดเวลา เพื่อป้องกันการแข็งตัวของอาหารที่ atomizer ซึ่งเป็นแบบ rotary disc ปรับความดันลมที่ใช้ในการหมุน atomizer ให้คงที่ที่ 30 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ตัวแปรที่ศึกษาในกระบวนการอบแห้ง ได้แก่ อุณหภูมิลมร้อนเข้า ศึกษา 3 ระดับคือ 160, 140 และ 120 องศาเซลเซียส โดยควบคุมอุณหภูมิลมออกให้อยู่ในช่วง 80-100 องศาเซลเซียส กับความเข้มข้นของอาหารเหลว ศึกษา 3 ระดับคือปริมาณของแข็งทั้งหมด 20 %, 17 % และ 14 % ซึ่งเตรียมได้จากการเติมน้ำ 350, 450 และ 550 มิลลิลิตรในสูตรตามลำดับ

เกณฑ์ในการตัดสินเลือกสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ ขนาดอนุภาคอาหาร โดยร่อนอาหารด้วยเครื่องเขย่าแบบตะแกรงร่อน ใช้ตะแกรงขนาด 500, 250, 125 และ 53 ไมครอน แล้วชั่งน้ำหนักของอาหารแต่ละขนาด ปริมาณความชื้นของอาหาร (ดัดแปลงจากวิธีวิเคราะห์ของ AOAC-7.007 รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก1) % yield (คำนวณได้จากน้ำหนักของอาหารกุ้งวัยอ่อนที่ได้หารด้วยน้ำหนักส่วนประกอบอาหารเริ่มต้น คูณด้วย 100) และปริมาณวิตามินซีที่เหลืออยู่ในอาหาร (34)

วางแผนการทดลองแบบ Symmetric Factorial experiment ขนาด $3^2$ ทดลอง 2 ซ้ำ

3.10 <u>ศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพของอาหารกุ้งกุลาดำวัยอ่อนที่ได้จากการอบแห้ง 4 แบบ</u>

เตรียมอาหารจากวิธีผสมที่เลือกจากข้อ 3.8 และอบแห้งด้วยสภาวะการอบแห้งที่ดีที่สุดของการอบแห้งแต่ละวิธีซึ่งเลือกจากข้อ 3.9 ศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพโดยวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี (34) ปริมาณความชื้น (ดัดแปลงจากวิธีวิเคราะห์ของ AOAC-7.007 รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก1) ปริมาณโปรตีน(ดัดแปลงจากวิธีวิเคราะห์ของ AOAC-7.024 รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก2) ปริมาณไขมัน (ใช้วิธีวิเคราะห์ของ AOAC-7.062 รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก3) ปริมาณเถ้า (ใช้วิธีวิเคราะห์ของ AOAC-7.009 รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก4) ปริมาณเส้นใย (ดัดแปลงจากวิธีวิเคราะห์ของ AOAC-7.073 รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก5) ปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยคำนวณจากผลรวมขององค์ประกอบอื่นไปหักออกจาก 100 และนำอาหารไปเลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อนจากระยะ Zoea 3 ถึง Postlarva 2

<u>การเลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อน</u>

เตรียมน้ำในการเลี้ยงลูกกุ้งวัยอ่อนโดยกรองน้ำทะเลซึ่งมีความเค็มประมาณ 30 ส่วนในพันส่วน ด้วยถุงผ้ากรองขนาด 1 ไมครอน เพื่อดักตะกอนและสิ่งแขวนลอยขนาดเล็กหรือพืชและสัตว์เล็ก ๆ ซึ่งอาจจะเข้ามาเติบโตในบ่อเลี้ยงลูกกุ้ง และเป็นอันตรายต่อลูกกุ้งได้ หลังจากนั้นให้อากาศและทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 วันก่อนนำไปใช้

ขนส่งลูกกุ้งวัยอ่อน ระยะ Nauplius3-4 จากฟาร์มในอำเภอบางปะกงมายังห้องปฏิบัติการ ลูกกุ้งที่ใช้ต้องฟักออกจากไข่ของแม่กุ้งที่วางไข่ในคราวเดียวกันทั้งหมดเพื่อให้เจริญเข้าสู่ระยะต่าง ๆ พร้อมกัน การขนส่งทำโดยบรรจุลูกกุ้งในถุงอัดกาซ

ออกซิเจนแล้วมัดปากถุงให้แน่น รักษาอุณหภูมิขณะขนส่งไม่เกิน 27 องศาเซลเซียส เมื่อมาถึงห้องปฏิบัติการนำถุงลูกกุ้งลอยในน้ำทะเลที่เตรียมไว้ เพื่อปรับอุณหภูมิของน้ำในถุงและบ่อเลี้ยงให้ใกล้เคียงกัน เป็นเวลาประมาณ 30 นาที หลังจากนั้นเปิดถุง ผสมน้ำในบ่อเลี้ยงเข้าไปในถุงทีละน้อย แล้วจึงเทลูกกุ้งลงในบ่อเลี้ยง

เมื่อลูกกุ้งเจริญเข้าสู่ระยะ Zoea 1 ให้ Chaetoceros calcitrans เป็นอาหารให้มีความหนาแน่น 30,000-50,000 เซลต่อมิลลิลิตรวันละ 2 ครั้งจนลูกกุ้งเจริญถึงระยะ Zoea3 สุ่มตัวอย่างมาวัดความยาวเหยียด (total length) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ แล้วย้ายลูกกุ้งลงในภาชนะที่ใช้ทดลอง (โคน) 100 ตัวต่อ 1 โคน เติมน้ำทะเลให้ทุกโคนมีปริมาตรเท่ากันเป็น 800 มิลลิลิตร โคนที่ใช้ทดลองแต่ละซ้ำมี 12 อันวางอยู่ในลังไม้ที่บรรจุน้ำเต็ม เพื่อควบคุมอุณหภูมิของน้ำที่ 27-30 องศาเซลเซียส และเลี้ยงลูกกุ้งวัยอ่อนด้วยอาหารที่ผลิตขึ้นและอาหารที่ผลิตทางการค้าในอัตรา 0.016 กรัมต่อวัน สำหรับกลุ่ม control เลี้ยงด้วยอาหารธรรมชาติคือ Chaetoceros calcitrans ในขนาด 60 มิลลิลิตรต่อวัน จากระยะ Zoea3-Mysis2 และไรน้ำเค็มให้มีความหนาแน่น 3 ตัว/มิลลิลิตร จากระยะ Mysis3-Postlarva2 แบ่งให้ 2 เวลาต่อวัน คือ 8.00 น. และ 18.00 น. การให้อาหารจะยืออาหารผ่านผ้ากรองขนาด 120T เพื่อให้อาหารแยกตัวเป็นอนุภาคเดี่ยว ๆ ถ่ายโคนเพื่อกำจัดตะกอนที่ติดข้างโคนออกทุกวัน เปลี่ยนน้ำทั้งหมดวันเว้นวัน บันทึกอุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรดด่างของน้ำทุกวัน เมื่อลูกกุ้งเจริญถึงระยะ Postlarva2 นับจำนวนลูกกุ้งที่เหลืออยู่ และสุ่มตัวอย่างลูกกุ้งมาวัดความยาวเหยียดโคนละ 10 ตัว

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized design ทดลอง 2 ซ้ำ

3.11 ศึกษาอายุการเก็บของอาหารกุ้งวัยอ่อน

บรรจุอาหารลูกกุ้งวัยอ่อนที่ผลิตจากวิธีผสมซึ่งสรุปได้จากข้อ 3.8 และอบแห้งด้วยวิธี freeze drying ในถุง laminate และ Eval film ถุงละ 20 กรัม ปิดผนึกถุงภายใต้บรรยากาศกาซไนโตรเจน โดยใช้เครื่องปิดผนึก Multivac ในการบรรจุได้กำจัดอากาศจากถุงจนถึงระดับความดันสุญญากาศ 0.8 bar แล้วจึงบรรจุกาซไนโตรเจนจนความดันสุญญากาศลดลงเป็น 0.3 bar จากนั้นปิดผนึกที่อุณหภูมิ 115-120 และ 73-75 องศาเซลเซียส สำหรับถุง laminate และ Eval film ตามลำดับ เก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส ระหว่างเก็บ สุ่มตัวอย่างทุก 30 วันมาวิเคราะห์ปริมาณ

วิตามินซี (34) ปริมาณความชื้น (ดัดแปลงจากวิธีวิเคราะห์ของ AOAC-7.007 รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก1) ค่า Thiobarbituric acid (34) เป็นเวลา 4 เดือน

วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial experiment ขนาด 2x4 ทดลอง 2 ซ้ำ

3.12 <u>การประมาณต้นทุนในการผลิตอาหารกุ้งวัยอ่อน</u>

ประมาณต้นทุนในการผลิตอาหารกุ้งวัยอ่อนที่ผลิตจากสภาวะที่ดีที่สุดของการอบแห้งทั้ง 4 แบบ โดยคำนวณจากค่าวัสดุอาหาร วัสดุภาชนะบรรจุ และค่าพลังงานในการทำแห้งอาหาร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย