รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

คณิต ไชยาคำ, ก่อเกียรติ กูลแก้ว, ธนาวุฒิ กล่าวเกลี้ยง, กฤต รัชตนันต์ และธวัชชัย ทองน้อย. 2541. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำเพื่อเป็นพ่อแม่ในบ่อดินที่จังหวัดสตูล. ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสตูล, กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง, กรุงเทพฯ. 21 หน้า.

นวลจันทร์ จันทร์สว่าง. 2537. ผลของฮอร์โมน 17 แอลฟา – เมทธิลเทสโตสเตอโรน และ เทสโตสเตอโรนโปรฟีโอเนตต่อขบวนการสร้างสเปิร์มของกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิเวศน์ เรืองพานิช, สุจินต์ มณีวงศ์, ธิดา เพชรมณี และฐานันดร์ ทัตตานนท์. 2524. การทดลองเร่งกุ้งกุลาดำให้มีไข่แก่ในบ่อ. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 2 สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งแห่งชาติ กองประมงน้ำกร่อย, กรมประมง, กรุงเทพฯ. 23 หน้า.

บรรจง เทียมส่งรัศมี. 2534. การเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล. อักษรเจริญทัศน์. กรุงเทพฯ. 63 หน้า.

บุญรัตน์ ประทุมชาติ. 2534. คุณภาพเซลล์อสุจิและขนาดที่เหมาะสมของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius) วัยเจริญพันธุ์จากบ่อเลี้ยง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

บุญเสริม. วิทยชำนาญกุล. 2544. ความก้าวหน้าในการพัฒนาพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในระบบฟาร์มและแนวทางพัฒนาต่อเนื่อง. ริมบ่อ. 30: 16-20 หน้า.

บุญเสริม วิทยชำนาญกุล. 2545. ศ.น.พ. บุญเสริม ผลิตแม่เพรียงปลอดเชื้อ แนะตรวจ Nested PCR แม่เพรียงคาดว่ามีเชื้อตัวแดงถ่ายทอดสู่แม่กุ้งได้. คัมภีร์เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. 8: 9-14 หน้า.

ประจวบ หลำอุบล. 2543. เสวนาวิชาการเรื่อง " กุ้ง". ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เปี่ยมศักดิ์ มานะเศวต. 2534. อาหารกุ้งกุลาดำสำหรับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. วารสารการประมง, 4(4): 329-342.

มะลิ บุญรัตนผลิน. 2531. อาหารและการให้อาหารกุ้งกุลาดำ. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ. กรมประมง. กรุงเทพฯ. 65 หน้า.

รวีวรรณ สุวณิชย์. 2542. ปริมาณและอัตราส่วนของกรดไอโคสะเพนทาโนอิคต่อกรดโดโคสะ-เฮกซะโนอิคที่เหมาะสมต่อการเติบโตและการรอดของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) หลังวัยอ่อน. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรณู ยาชิโร และสมิง ทรงถาวรทวี. 2539. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์โดยวิธีลดความหนาแน่นและการย้ายบ่อ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 14 / 2539 สถาบันวิจัยเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรุงเทพฯ. 9 หน้า.

วิชัย วัฒนกุล. 2534. ผลการฉีดฮอร์โมน 17α- hydroxy-progesterone ต่อคุณภาพสเปอร์ม ในกุ้งแชบ๊วย *Penaeus merguiensis* (de Man). เอกสารวิชาการฉบับที่ 7 / 2534 สถาบันวิจัยเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรุงเทพฯ. 19 หน้า.

วินัย ดะห์ลัน, สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล, พิมพ์พร อินนพคุณ, สุพันธิตรา ชาญประเสริฐ และโสภณา จาตนิลพันธ์. 2541. การผลิตเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า – 3 เพื่อใช้เพิ่มผลผลิตกุ้งกุลาดำ. รายงานวิจัยงบประมาณแผ่นดินปี พ.ศ. 2540. สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วีรพงษ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. ภาควิชาวาริชศาสตร์. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยบูรพา. ชลบุรี. 216 หน้า.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2543. โภชนาศาสตร์และการให้อาหารสัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่2. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 255 หน้า.

สกลธ์ แสงประดับ. 2534. ผลของอาหาร แหล่งและขนาดของแม่พันธุ์ที่มีต่อการพัฒนารังไข่และการวางไข่ของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมิง ทรงถาวรทวี, สมบูรณ์ หลาวประเสริฐ และ พิทักษ์ พลขันธ์. 2526. การทดลองเปรียบเทียบการตัดตากุ้งกุลาดำที่ได้จากธรรมชาติและจากนากุ้ง, น. 68 – 94. ใน รายงานประจำปี 2526. สถานีประมงน้ำกร่อยจังหวัดระยอง. กองประมงน้ำกร่อย. กรมประมง. กรุงเทพฯ.

สุพิศ ทองรอด. 2536. ความสำคัญของไขมันในอาหารสัตว์น้ำ. วารสารกรมประมง 46(3): 943 – 950.

สิทธิโชค จันทร์ย่อง. 2545. ผลของความเค็มต่างระดับและเกลือแร่บางชนิดต่อการพัฒนารังไข่และการวางไข่ของแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อนุตรา อัครจามร. 2534. การศึกษาทางเนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อภิรักษ์ มาซา. 2540. ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการให้อาหารและคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภาษาอังกฤษ

Adiyodi, R.G. 1985. Reproduction and Its Control. In: Bliss, D.E., and Mantel, L.H. (Eds.), The Biology of Crustacea. 9: 147 - 215.

Alfaro, J. and Lozano, X. 1993. Development and deterioration of spermatophores in pond-reared *Penaeus vannamei.* J. World Aquacult. Soc. 24 (4): 522-529.

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 15 th ed. Washington DC. 1094 pp.

AOCS 1989. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society 4th edn., Am. Oil Chem. Soc. Champaign, IL.

Aquacop 1983. Costitution of broodstock, maturation, spawning and hatching systems for Penaeid shrimps in the Center Oceanlogique du Pacifique. In CRC Handbook of mariculture vol. 1: Crustacean aquaculture. pp. 105-121, CRC Press, Forida.

Beard, T.W. and Wickins, J.F. 1980. Breeding of *Penaeus monodon* Fabricius in Laboratory recirculation systems. Aquaculture. 20: 79-89.

Bell, J. G. and Sagent, J.R. 2003. Arachidinic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. Aquaculture 218: 491 - 499.

Bell, M.V., Dick, J.R., Thrush, M., Navarro, J.C. 1996. Decreased 20:4*n*-6 / 20: 5*n*-3 ratio in sperm from cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax*, broodstock compared with wild fish. Aquaculture 144: 189-199.

Bentley, M.G., Clark, S. and Pacet, A.A. 1990. The Role of Arachidonic Acid and Eicosatrienoic Acids in the Activation of Spermatozoa in *Arenicola marina* L. (Annelida: Polychaeta). Biol. Bull. 178: 1-9.

Bessonart, M., Izquierdo, M.S., Salhi, M., Harnandez-Cruz, C.M., Gonzalez, M.M., Fernandez-Palacios, H. 1999. Effect of dietary arachidonic acid levels on growth and survival of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae. Aquaculture 179, 265-275.

Bligh, E.G., and Dryer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 38(8): 911 - 917.

Bray, W.A., Leung – Trujillo, J.R., Lawrence, A. L., and Robertson, S.M. 1985. Preliminary Investigation of the effects of temperature, bacterial inoculation, and EDTA on sperm quality in captive *Penaeus setiferus*. J. world maricult. Soc. 16: 250 - 257.

Browdy, C.L. 1992. A review o the reproductive biology of *Penaeus* species: perspectives on controlled shrimp maturation systems for high quality naupli production. In: Wyban, J. (Ed.), Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming. J. World Aquacult Soc Baton Rouge, LA USA. pp 22 - 51.

Brown, A. Jr., Mcvey, J.P., Middleditch, B.S., and Lawrence, A.L. 1979. Maturation of white shrimp, *Peneaus setiferus* in captivity. Proc. World Maricult. Soc. 10: 435 - 444.

Castille, F.L., and Lawrence, A.L. 1989. Relationship between maturation and biochemical composition of the gonads and digestive glands of the shrimps, *Penaeus aztecus* IVS and *Penaeus setiferus* (L.). J. of Crust. Biol. 9(2): 202 - 211.

Clark, W.J. Jr., Talbot, P., Nail, R.A., Mock, C. R. and Salser, B.R. 1973. In vitro fertilization with non-motile spermatozoa of the brown shrimp *Penaeus aztecus*. Marine Biol. 22: 53-354. Cited in Browdy, C.L. 1992. A review of the reproductive biology of *Penaeus* species: perspectives on controlled shrimp maturation systems for high quality naupli production. In: Wyban, J. (Ed.), Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming. J. World Aquacult Soc. Baton Rouge, LA USA. pp 22 - 51.

Chamberlain, G.W., Johnson, S, K. and Lewis, D. 1983. Swelling and melanization of the male reproductive system of captive adult Penaeid shrimp. J. World Maricult. Soc. 14: 135 - 136.

Chamberlain, G.W. and Lawrence, A. L. 1981. Maturation, Reproduction and growth of *Penaeus vannamei* and P. *stylirostris* fed natural diets. J. World Maricult. Soc. 12 : 209 - 224.

Cowey, C.B.and Froster, J.R.M. 1971. The essential amino-acid requirements of the prawn, *Palaemon serratus*. Mar. Biol., 10: 77 - 81.

D'Abramo L. R. 1997. Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture, Volume 6. J. World Aquacult Soc. Louisiana State University. Baton Rouge, LA.

D' Souza, F. 1997. Why are some microalgae better diets for penaeid prawn larvae than other? In: Proceedings of the2nd Asia- Pacific Conference Marine Biotechnology and 3rd Asia-Pacific Conference on Algal Biotechnology. pp. 109. Phuket. Thailand. Cited in Glencross and Smith, D.M.,2001. A study of the arachidonic acid requirments of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*. Aquaculture Nutrition. 7: 59 – 69.

Emmerson, W.D. 1983. Maturation aand growth of ablated and unablated *Penaeus monodon* Fabricius. Aquaculture. 32: 235 – 241.

Egan, H., R.S. Kirk and Sawyer, R. 1981. Pearson's Chemical Anlysis of food. 8th ed., New York. Longman Scientific and Technical, 591 pp.

Gonzalez-Felix, M. L., Gatlin III, D. M., Lawrence A. L. and Perez-Vwlazquez. 2002. Effect of dietary phospholipid on essential fatty acid requirement and tissue lipid composition of *Litopenaeus vannamei* juveniles. Aquaculture. 207: 151-167.

Gomes, L.A. and Primavera J.H. 1993. Reproductive quality of male Penaeus monodon. Aquaculture. 112: 157 - 164.

Glencross and Smith, D.M. 2001. A study of the arachidonic acid requirments of the giant tiger prawn, *enaeus monodon*. Aquaculture Nutrition. 7: 59 - 69.

Glencross and Smith, D.M. 2001. Optimizing the essential fatty acids, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid, in the diet of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*. Aquaculture Nutrition. 7: 101 -112.

Harrison, K.E. 1990. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans: a review. J. Shellfish Res. 9: 1 - 28.

Heitzmann, J-C., Diter, A. and AQUACOP. 1993. Spermatophore formation in the white shrimp, *Penaeus vannamei* Boone 1931: dependence on the intermolt cycle. Aquaculture. 116: 91 - 98.

Hillier, A.G. 1984. Artificial conditions influencing the maturation and spawning of subadult *Penaeus monodon* (Fabricius). Aquaculture. 36: 179 - 184.

Kanazawa, A., Teshima, S., Endo, M. and Kayama, M. 1978. Effect of eicosapentaenoic acid on growth and fatty acid composition of the prawn *Peneaus japonicus*. Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ. 21: 35 - 40.

Kanazawa, A., Teshima, S. Ono, K. and Chalayodeja, K. 1979. Biosynthesis of fatty acids from acetate in the prawn, *Penaeus monodon* and *Penaeus merguiensis*. Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ. 28: 21-26

Kanazawa, A., Teshima, S., Tokiwa, S., Kayama, M. and Hirata, M. 1979. Essential fatty acids in the diets of prawn. II. Effects of docosahexaenoic acid on growth. Bull. Jpn.Soc. Sci. Fish. 45: 1151 - 1153.

King, J. E. 1948. A study of the reproductive organs of the common marine shrimp, *Penaeus setiferus* (Linnaeus). Biol. Bull. 94: 244 - 262.

Koven, W., Barr, Y., Lutzky, S., Ben-Atia, I., Weiss, R., Harel, M., Behrens, P., and Tandler, A., 2001. The effect of dietary arachidonic acid (20:4*n*-6) on growth, survival and resistance to gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae. Aquaculture 193: 107-122.

Lapage, G. and Roy, C.C. 1984. Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. J. Lip. Res. 25: 1391 - 1396.

Leger, P., Bengtson, D. A., Simpson, K. L. and Sargeloos, P. 1986. The use and nutritional value of artemia as a food source. Oceanogr. Mar. Biol., Annu. Rev. 24: 521 - 623.

Leger, P. and Sargeloos, P. 1992. Optimized feeding regimes in shrimp hatcheries pp. 225 - 244., *In* A.W. Fast and Lester, L.J. (eds). Marine shrimp Culture Principles and Practice. New York. Elsevier Science Publishers.

Lemm, C.A. and Lemarie, D.P. 1991. Survival and growth of larval striped bass (*Morone saxatilis*) fed *Artemia* enriched with highty unsaturaated fatty acid (HUFA). Aquaculture. 99: 117 - 126.

Leung- Trujillo, J.R. and Lawrence, A.L. 1985. The effect of eyestalk ablation on spermatophore and sperm quality in *Penaeus vannamei*. J. World Maricult. Soc. 16: 258 - 266.

Leung- Trujillo, J.R. and Lawrence, A.L. 1987. Observations on the decline in sperm quality of *Penaeus setiferus* under laboratory conditions. Aquaculture. 65: 363 - 370.

Leung- Trujillo, J.R. and Lawrence, A.L. 1991. Spermatophore Generation Times in *Penaeus setiferus, P. vannamei*, and *P. stylirostris*. J. World Aquaculture Soc. 22: 244 - 251.

Lim, C., Ako, H., Brown, C.L., and Hahn, K. 1997. Growth response and fatty acid composition of juvenile *Penaeus vannamei* fed different sources of dietary lipid. Aquaculture. 151: 143 - 153.

Lytle, J.S., Lytle, T.F., and Ogle, J.T. 1990. Polyunsaturated fatty acid profiles as a comparative tool in assessing maturation diets of *Peneaus vannamei*. Aquaculture. 89: 287 – 299.

Middleditch, B.S., Missler, S.R., Ward, D.G., McVey, J.B., Brown, A and Lawrence, A.L. 1979. Maturation of penaeid shrimp: dietary fatty acids. Proc. World Maricult. Soc., 10: 472-476. Cited in Lytle, J.S., Lytle, T.F., and Ogle, J.T. 1990. Polyunsaturated fatty acid profiles as a comparative tool in assessing maturation diets of *Peneaus vannamei*. Aquaculture. 89: 287 – 299.

Millamena, O.M., J.H. Primavera, R.A. Pudarera and R.V. Caballero. 1986. The effect of diet on the reproductive performance of pond – reared *Penaeus monodon* Fabricius broodstock, 593 - 596. Cited in. Maclean, J.L. Dizon, L.B.and Hosillos, L.V. (eds.). The first Asian fisheries forum. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.

Motoh, H. 1981. Studies on the fishery biology of giant tiger prawn (Penaeus monodon) in Philippinces. SEAFDEC Aquaculture Tech. Rep. No. 7.

Naessens, E., P. Lavens, L. Gomez, C. Browdy, K. McGovern-Hopkins, A. Spencer, D. Kawahigashi and P. Sorgeloos. 1997. Maturation performance of *Penaeus vannamei* co-fed *Artemia biomass* preparations. Aquaculture. 155: 87-101.

Neil, F. H. 1985. The Adaptive Role of Lipids in Biological Systems. John Wiley and Sons. Inc. United States of America. 319 pp.

Pasicual, C. E.V., Re – Regis, C., Gaxiola, G., Sanchez, A., Ramos, L., Soto L. A. and Rosas, C. 1998. Effect of water temperature on reproductive tract condition of *Penaeus setifer*us adult males. J. World Aquacult. Soc. 29: 477 - 484.

Perez – Velazquez., M., Bray, W. A., Lawrence, A. L., Gatlin, D. M. and Gonzalez Felix, M. L. 2001. Effect of temperature on sperm quality of captive *Litopenaeus vannamei* broodstock. Aquaculture. 198: 209 - 218.

Pinon, E. 2000. Producing Ragworms for Shrimp Broodstock Maturation. The Advocate. INVE del Ecuador Cdla. Las Conchas, Mza. A-11. Salinas – Guayas. Ecuador. pp. 82 - 84.

Primavera, J. H. 1978. Induced maturation and spawning in five – month – old *Penaues monodon* Fabricius by eyestalk ablation. Aquaculture. 13: 355 – 359.

Primavera, J. H. 1983. Broodstock of sugpo (*Penaues monodon* Fabricius). SEAFDEC Extension Manual No.7: 24 pp.

Primavera, J. H. 1988. Maturation, Reproduction and broodstock technology. In Biology and culture of *Penaues monodon*. 37 - 57. Iloilo: SEAFDEC.

Primavera, J. H., Lim, C. and Borlongan, E. 1979. Feeding regimes in relation to reproduction and survival of ablated *Penaues monodon*. Kalikasan, Philipp. J. Biol. 8(2): 227 - 235.

Read, G. 1984. Intraspecific variation in the osmoregulatory capacity of larval, postlarval, Juvenile and adult Macrobracium petersi (Hilgendorf). Comp. Biochem. Physiol 78A: 501- 506. อ้างถึงใน สิทธิโชค จันทร์ย่อง. 2545. ผลของความเค็มต่างระดับและเกลือแร่บางชนิดต่อการพัฒนารังไข่และการวางไข่ของแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Rees, J.F., Cure, K., Piyatiratitivorakul, S., Sorgeloos, P. and Menasaveta, P. 1994. Highly unsaturated fatty acid requirements of *Penaeus monodon* postlarvae: an experimental approach based on Artemia enrichment. Aquaculture. 122: 193 - 207.

Samuel, M. J., Kannupandi, T. and Soundarapandian, P. 1999. Nutritional effects on male reproductive performance in the freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii* (H. Milne Edwards). Aquaculture. 172: 327 - 333.

Sagent, J. R. J.Henderson and Tocher, D.R. 1989. The lipids, pp. 153 - 218 *In* Fish Nutrition Second Edition. San Diego. Academic Press.

Sandifer, P.A., Lawrence, A.L., Harris, S.G., Chamberlian, G.W., Stockes, A.D. and Bray, W.A. 1984. Electrical stimulation of spermatophore expulsion in marine shrimp, *Penaues spp.* Aquaculture. 41: 181-187.

Santiago, A.C., Jr. 1977. Successful spawning of cultured *Penaeus monodon* Fabricius after eyestalk ablation. Aquaculture. 11: 185 - 196.

Sargent, J.R., Bell, J.G., McEvoy, L.A., Tocher, D.R. 1999. Recent development in the essential fatty acid nutrition of fish. Aquaculture. 177: 191-199.

Sire, M.F., C. Lutton and J.M. Vernier. 1981. New views on intestinal absorption of lipids in teleostean fishes : An ultrastructural and biochemical study in the rainbow tout. J. Lipid Res., 22: 81 - 94. อ้างถึงใน เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2543. โภชนาศาสตร์และการให้อาหารสัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 255 หน้า.

Telbot, P., Howard, D., Leung – Trujillo, J., Lee, T. W., Li, W- Y., Ro, H. and Lawrence, A. L. 1989. Charecterization of male reproductive tract degenerative syndrome in captive Penaeid shrimp (*Penaeus setiferus*). Aquaculture 78: 365 - 377.

Teshima, S., Kanazawa, A., Koshio, S. and Horinouchi, K. 1989. Lipid metabolism of the prawn *Peneaus japonicus* during maturation: variation in lipid profiles of the ovary and hepatopancreas. Comp.Biochem. Physiol. 92B: 45 - 49.

Voet, D., and Voet, J.G. 1995. Biochemistry. 2nd New York: John Willey&Sons.

Wade, M.G., van der Kraak, G., Gerrito, M.F. and Ballantyne, J.S. 1994. Release ans steroidogenic action of polyunsaturated fatty acids in the goldfish testes. Bio. Reprod. 51: 131-139. Cited in Bell, M.V., Dick, J.R., Thrush, M. and Navarro, J.C. 1996. Decreased 20:4*n*-6 / 20: 5*n*-3 ratio in sperm from cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax*, broodstock compared with wild fish. Aquaculture 144: 189-199.

Wang, Q., Misamore, M., Jiang, C. Q. and Browdy, C. L. 1995. Egg water induced reaction and biostain assay of sperm from marine shrimp *Penaeus vannamei* dietary effects on sperm quality. J. World Aquacul. Soc. 26(3): 261 - 271.

Watanabe, T. 1982. Lipid nutrition in fish. Comp. Biochem. Physiol 73B: 3-15.

Withyachamnarnkul, B., Boonsaeng, V., Flegel, T.W., Panyim, S., Wongteersupay, C. 1998. Domestification and Selective Breeding of *Penaeus monodon* in Thailand. Advances in shrimp Biotechnology. In Proceeding to the special Session on Shrimp Biotechnology. 5th Asian Fisheries Forum Chiengmai, Thailand 11-14 November 1998. 73 - 75.

Wouters, R., Lavens, P., Nieto, J. and Sorgeloos, P. 2001. Penaeid shrimp broodstock nutrition: an updated review on research and development. Aquaculture. 202: 1-21.

Xu, X. L., Ji, W. J., Castell, J. D., O' Dor, R.K. 1994. Essential fatty acid requirment of the Chinese prawn, *Penaeus chinensis*. Aquaculture. 127: 29- 40.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การศึกษากรดไขมันจากตัวอย่างกุ้งและวัสดุอาหาร

1. วิธีการสกัดและการแยกชนิดของน้ำมันจากตัวอย่าง (Blight and Dyer, 1959)

สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้

1. ตัวอย่างอาหารสดหรือแช่แข็งที่ละลายแล้วหรือที่ Freeze dried
2. คลอโรฟอร์มและเมทธานอล
3. ถ้วยกระเบื้องสำหรับกรอง (Buchner funnel)
4. กระดาษกรองเบอร์ 1
5. โซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส (Na_2SO_4)
6. กรวยแยกสาร (Separatory funnel)
7. เครื่องปั่นตัวอย่างให้ละเอียด (Homogenizer)
8. ปั๊มสูญญากาศ (Suction pump)
9. Rotary Evaporator
10. 0.88เปอร์เซ็นต์โพรแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)

การสกัดน้ำมัน

วิธีทำ

1. ชั่งน้ำหนักวัสดุอาหารตัวอย่างประมาณ 3 กรัม ลงในโถปั่นหรือหลอดปั่นขนาด 100 มิลลิลิตร เติม คลอโรฟอร์ม10 มิลลิลิตร เมทธานอล 20 มิลลิลิตรและน้ำให้อัตราส่วน 1: 2 : 0.8 เมื่อคิดรวมกับน้ำในเนื้อตัวอย่าง ปั่นละเอียดด้วย เครื่องปั่นตัวอย่าง (homogenizer) ที่ 12,500 rpm 2 นาที
2. เติม คลอโรฟอร์ม 10 มิลลิลิตรปั่น 30 นาที
3. เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ปั่น 30 นาที
4. กรองผ่าน ถ้วยกระเบื้องกรอง (Buchner funnel) ด้วย กระดาษกรองเบอร์ 1 ฉีดล้างส่วนที่ค้างอยู่ในโถปั่นและกระดาษกรองด้วย คลอโรฟอร์ม
5. นำส่วนที่กรองได้ เทลงในกรวยแยก (Separatory funnel)
6. ขูดส่วนบนของกระดาษกรองที่มีตัวอย่างค้างอยู่และตัดให้เป็นชิ้นเล็กก่อนใส่ลงไปพร้อมกับตัวอย่างลงในโถปั่น เติม คลอโรฟอร์ม 10 มิลลิลิตร ปั่น 1 นาที

7. นำส่วนที่กรองได้เทรวมลงในกรวยแยกอันแรก แล้วเติม 0.88เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียม-คลอไรด์ (KCl) ลงไป 1ใน 4 ของปริมาตรทั้งหมด เขย่าให้เข้าดี ทิ้งไว้ให้แยกชั้นอย่างน้อย 6 ชั่วโมง
8. ไขส่วนคลอโรฟอร์มชั้นล่างออกใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีจุกแก้ว เติมโซเดียมซัลเฟต-แอนไฮดรัส (Na_2SO_4) ลงไปเล็กน้อยไล่อากาศออกไปด้วยแก๊สไนโตรเจน แล้วปิดจุกแก้ว เก็บไว้ในที่ไม่มีแสงสว่าง 20-30 นาที
9. สังเกตลักษณะสารละลายที่ได้ต้องใส ถ้าไม่ใสเติมโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส (Na_2SO_4) ลงไปอีกเล็กน้อย จากนั้น กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เทส่วนที่กรองได้ใส่ใน ขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย คลอโรฟอร์ม จากนั้นไล่อากาศออกด้วยแก๊สไนโตรเจน แล้วปิดให้สนิท
10. ดูดส่วนที่กรองได้ใส่ลงในขวดแก้วก้นกลมหรือขวดแก้วรูป pear ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน แล้วนำไประเหย คลอโรฟอร์ม ออกใน Rotary evaporator
11. ชั่งน้ำหนักและหาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้คำนวณเป็นร้อยละของตัวอย่างสดและแห้ง

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันของ marine oils โดย GLC

วิธีนี้ใช้วิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมันใน marine oils และ marine oil ester โดยใช้ capillary column gas liquid chromatography

ขอบเขต

วิธีนี้ใช้หาองค์ประกอบของกรดไขมันใน marine oils และ marine oil ester โดยเปรียบเทียบในรูปของร้อยละของพื้นที่ (area เปอร์เซ็นต์) และใช้หาปริมาณ EPA และ DHA เป็น mg/g โดยใช้ fused sillica capillary column ที่เคลือบด้วย bonded polyglycol เป็นของเหลวอยู่ภายในและใช้ Tricosanoic acid (C23 : 0) เป็น internal standard วิธีนี้ใช้วิเคราะห์ตัวอย่าง marine oil หรือ marine oil ester และในรูปของ EPA หรือ DHA บรรจุแคปซูล

อุปกรณ์

1. เครื่อง gas chromatography (GC) พร้อมอุปกรณ์ประกอบ ซึ่งสามารถใช้กับระบบ Capillary ได้ โดยสามารถตั้ง split ratio ได้ มีหัววัดแบบ flame ionization detector (FID) และสามารถตั้งโปรแกรมอุณหภูมิได้

2. Capillary Column เป็น fused sillica ความยาวไม่น้อยกว่า 25 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2-0.35 มล. เฟสของเหลวควรเป็น bonded polyglycol
3. Carrier gas เป็นไฮโดรเจน หรือ ฮีเลียม 99.99เปอร์เซ็นต์ หรือบริสุทธิ์มากกว่า
4. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิหรือ heating block
5. หลอดแก้วมีฝาเกลียว ขนาด 16X125 มิลลิเมตร
6. ขวดบรรจุตัวอย่างพร้อมฝาเกลียว ขนาดอย่างน้อย 2 มิลลิเมตร
7. Volumetric pipettes ขนาด 1 และ 2 มิลลิเมตร
8. Volumetric flask ขนาด 25 และ 100 มิลลิเมตร
9. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
10. แก๊สไนโตรเจนปราศจากน้ำ

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานไตรโคซาโนอิค (Tricosanoic acid, C23:0) เป็น internal standard (เตรียมโดยชั่ง C23:0 10 มิลลิกรัม ละลายใน Iso-octane AR grade(2,24 Trimethylpentane) 0.5 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอดแก้วมีฝาเกลียวหลอดละ 50 ไมโครลิตร โดยใช้ Microsyringe ขนาด 100 ไมโครลิตร นำไประเหยไล่ตัวทำละลายออกด้วยแก๊สไนโตรเจน ปิดฝาให้สนิท แช่แข็งในตู้เย็น
2. 0.5 N NaOH ใน Methanol (เตรียมโดยการชั่ง Sodium hydroxide AR grade 1 กรัม เติม Methanol AR grade 50 มิลลิลิตร กวนด้วย magnetic stirror โดยใส่ในบีกเกอร์ ขนาดใหญ่ที่มีน้ำเป็นตัวช่วยระบายความร้อนอยู่ภายใน)
3. 12เปอร์เซ็นต์ Borotrifluoride ใน Methanol AR grade
4. Saturated Sodium Chloride (เตรียมโดยละลาย Sodium Chloride 36 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร โดยให้ความร้อนเล็กน้อย

การเตรียม Methyl ester ของกรดไขมัน

การหา Area Percentages

1. ชั่งเตรียมน้ำมันตัวอย่าง 10 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียว
2. เติม 0.5 NaOH ใน Methanol จำนวน 1 มิลลิลิตร ไล่อากาศออกด้วยแก๊สไนโตรเจน ปิดฝาเขย่า 10 วินาที
3. Reflux ในน้ำเดือด 30 นาที หรือจนได้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. ทิ้งให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้อง เติม Borontrifluoride ใน Methanol 2 มิลลิลิตร ไล่อากาศด้วยแก๊สไนโตรเจนปิดฝา เขย่า 10 วินาที Reflux ในน้ำเดือด 20 วินาที
5. หลังจากทิ้งให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้อง เติม Hexane 1 มิลลิลิตร ปิดฝา ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex mixer เติม Saturated sodium chloride 3 มิลลิลิตร ปิดฝา เขย่าให้เข้ากันดี แล้วทิ้งไว้ให้แยกชั้น
6. ดูดผิวบนใส่ในขวด vial ขนาด 4-5 มิลลิลิตร ที่มีฝาชั้นในเป็น ซิลิโคนปิดสนิท
7. ฉีดตัวอย่าง 1-2 ไมโครลิตร ลงใน Gas chromatography

การวิเคราะห์ Methyl esterด้วย Gas Chromatography

(Gas Chromatograph SHIMADZU Condition GC ชนิด CBP20 (SHIMADZU) ยาว 25 เมตร ID 0.22 มิลลิเมตร)

column	:	Capillary Column DB Wax 30 m x 0.25 mm I.D., 0.25 microns		
Injection temperature	:	250°C		
Detecter temperature	:	300°C		
Column temperature	:	Temperature program		
		Rate (°C/min)	Temperature (°C)	Time (min)
Initial temperature			170	2
Final temperature		5	240	9
Split ratio	:	1:20		

สูตรการคำนวณ

1. Area Percentages

$$\text{Area เปอร์เซ็นต์ fatty acids} = \frac{100\ A_x}{(A_T)-(A_I)}$$

โดยที่

A_x = พื้นที่ของ Fatty acid "X"

A_T = พื้นที่ของโครมาโตรแกรมทั้งหมด

A_I = พื้นที่ของ Hexane

2. ปริมาณ DHA และ EPA หน่อยมิลลิกรัมต่อน้ำมัน 21 กรัม

$$\text{DHA หรือ EPA, mg/g} = \frac{(A_x)(W_{IS})(CF_x) \times 1000}{(A_{IS})(W_S)(1.04)}$$

โดยที่

(A_x) = พื้นที่ของ Fatty acid "X"

(A_{IS}) = พื้นที่ของ Internal Standard

(CF_x) = Theoretical correction factor ของ DHA (0.97) หรือ EPA (0.99)

(W_{IS}) = น้ำหนักของ Internal Standard ที่เติมลงไปหน่วยเป็น มิลลิกรัม

(W_S) = น้ำหนักของน้ำมันตัวอย่างหน่วยมิลลิกรัม

2. **วิธีการสกัดตัวอย่างที่มีปริมาณน้อยเพื่อนำไปหากรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง** (Lapage and Roy, 1984)

1. นำตัวอย่างที่ frzze-dried แล้วได้แก่เนื้อเยื่อกุ้ง อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ และ ตับอ่อน มาชั่งน้ำหนักประมาณ 100 มิลลิกรัม ลงในขวดสกัดตัวอย่าง
2. เติม สารละลายมาตรฐานกรดไขมันชนิดไตรโคซาโนอิค (Tricosanoic acid, C23:0) 1.0 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง และเติมสารละลาย methanol-hydrochloric (95:5) 2 มิลลิลิตร
3. นำขวดตัวอย่างไล่อากาศ ออกด้วยแก๊สไนโตรเจน ปิดฝาให้สนิท และปิดปากขวดด้วยพาราฟิล์ม อีกครั้งหลังจากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
4. ทิ้งให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้อง เจือจางด้วย น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร และสกัดด้วยเฮกเซน (Hexane) ที่ผสมด้วย บูทิลเลตไฮดรอกซีโทลูอีน(Butylated hydroxytoluene, BHT) 0.01เปอร์เซ็นต์ 1 มิลลิลิตร
5. ผสมตัวอย่างให้เข้ากันดีและรอให้ตัวอย่างแยกชั้น
6. เมื่อเกิดการแยกชั้นแล้ว ดูดตัวอย่างชั้นบนมาทำการกรองผ่าน โซเดียมซัลเฟต-แอนไฮดรัส (Na_2SO_4)
7. นำตัวอย่างที่ได้ไล่อากาศออกด้วยไนโตรเจนปิดฝาให้สนิทหลังจากนั้นนำไปฉีดเข้าเครื่อง แกสโครมาโตรกราฟฟี (Gas chromatography)

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (AOAC, 1995)

การหาปริมาณเถ้า

1. อบ crusible ที่ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน desicator ชั่งน้ำหนักละเอียด
2. ชั่งตัวอย่างแห้ง (รู้น้ำหนักละเอียด) ประมาณ 2 กรัม ใส่ใน crusible
3. วาง crusible บน hotplate ปล่อยให้เกิดการ ignate ในตู้ควัน จนหมดควัน
4. ย้าย crusible ไปเผาใน muffle funace ที่ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง
5. ทิ้งให้เย็นใน desicator แล้วชั่งน้ำหนักละเอียด
6. คำนวณเปอร์เซ็นต์ เถ้าจากสูตร

เปอร์เซ็นต์เถ้า = น้ำหนักเถ้าที่เหลือ * 100/ น้ำหนักของตัวอย่างแห้ง

การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

1. อบขวดสกัดไขมันของเครื่องที่ 130 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ ประมาณ 2-3 ชั่วโมง ตั้งทิ้งให้เย็นใน desicator ชั่งน้ำหนักอย่างละเอียด
2. ชั่งตัวอย่างแห้ง (รู้น้ำหนักละเอียด) ประมาณ 2 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1
3. ใส่ตัวอย่างที่ห่อด้วยกระดาษกรองแล้วใส่ลงใน thimble หลังจากนั้นใส่ thimble ลงในขวดสกัดไขมันของเครื่อง เติม petroleum ether 90 มิลลิลิตร ลงในขวดสกัดไขมัน (ระวังอย่าให้ขวด thimble แช่อยู่ใน thimble แช่อยู่ใน petroleum ether)
4. นำขวดสกัดไขมันไปประกอบกับเครื่อง soxtherm เปิดสวิทซ์ oil bath แล้ว set อุณหภูมิ ไว้ที่ 150 องศาเซลเซียส และเปิดสวิทซ์ ที่ pressure control pump เปิด cooler ให้น้ำเย็นไหลเวียนเข้าสู่ condenser ของเครื่อง soxtherm
5. เลื่อนคันโยกที่เครื่อง soxtherm มายังตำแหน่ง ที่จะให้เกิดการ reflux กลับของ petroleum ether ปล่อยให้เกิดการสกัดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง

6. เลื่อนคันโยกที่เครื่อง soxtherm มายังตำแหน่งที่จะให้เกิดการกลั่นเก็บของ petroleum ether รอจน petroleum ether แห้งเกือบหมด
7. นำขวดสกัดไขมันไปอบที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นใน desictor
8. นำขวดสกัดไขมันไปชั่งน้ำหนักละเอียด
9. คำนวณ เปอร์เซ็นต์ ไขมัน จาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์ ไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักของไขมัน} * 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างแห้ง}}$$

วิธีการวิเคราะห์โปรตีน

มี 3 ขั้นตอน คือ

3.1 การย่อยตัวอย่างอาหารให้อยู่ในรูปสารละลาย

3.2 การหาปริมาณโปรตีนโดยใช้การกลั่นสารละลายที่ได้จากข้อหนึ่ง

3.3 การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของกรด H_2SO_4

3.1 การย่อยตัวอย่างอาหาร (Kjeldatherm digestion)

1. ชั่งตัวอย่างอาหารประมาณ 2 กรัม ใส่ใน digestion tube
2. เติม catalyst 10.01 กรัม ลงไปแล้วเติม H_2SO_4 เข้มข้น 25 มิลลิลิตร
3. นำ digestion tube ใส่ใน rack แล้วนำ rack ไปใส่ใน Kjeldatherm digestion block พร้อมทั้งประกอบท่อดูดควันระบบสูญญากาศทิ้งให้เกิดการย่อยจนได้สารประกอบสีดำ ประมาณ 20 นาที
4. เริ่มตั้งอุณหภูมิเครื่อง Kjeldatherm digestion block ไว้ประมาณ 100 องศาเซลเซียสแล้วเพิ่มอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ทุกๆประมาณ 15-20 นาที จนอุณหภูมิถึง 380 องศาเซลเซียส
5. ปล่อยให้เกิดการย่อยจนสมบูรณ์(โดยสีของสารละลายใน digestion tube จะขึ้นกับชนิดของ catalyst ในการย่อยโดยใช้ Se เป็น catalyst จะได้สารละลายสีเหลือใส)
6. ปล่อยทิ้งไว้ให้สารละลายมีอุณหภูมิลดลงจนถึงอุณหภูมิห้อง
7. เติมน้ำกลั่นลงไปใน digestion tube ให้น้ำใน tube มีปริมาณมากพอที่จะนำไปใช้กลั่นได้ (เติมประมาณ 100-150 มิลลิลิตร)

3.2 การกลั่นสารละลายเพื่อนำไปหาโปรตีน

1. เปิดเครื่องมือ vapodest 1 โยกคันโยกมาอยู่ตำแหน่ง fill เพื่อปล่อยน้ำเข้าสู่ boiler จนได้ระดับน้ำประมาณ 6/10 ของ boiler แล้วโยกคันโยกมาอยู่ที่ตำแหน่ง stand by น้ำใน boiler จะเริ่มเดือด ไม่ควรเติมน้ำมากไปเพราะเวลาน้ำเดือดจะล้นเข้าไปอยู่ใน digestion tube
2. เติม 4 เปอร์เซ็นต์ boric acid 100 มิลลิลิตร ลงใน erlenmeyer flask 1 ขนาด 500 มิลลิลิตร หยด tashiro indicator ลงไป 5-6 หยด จะได้สารละลายสีม่วง
3. วาง flask ที่มี boric acid ไว้ในตำแหน่งที่มี drainage tube โดยปล่อยให้ปลาย drainage tube จุ่มอยู่ในสารละลาย boric acid ตลอดเวลา นำ digestion tube ที่มีตัวอย่างที่ dilute แล้วไปวางบน clamp โดยให้ส่วนปลายเปิดของ tube แนบสนิทกับ cone-shaped rubber stopper
4. เมื่อน้ำเริ่มเดือดเป็นไอให้กดปุ่ม "added NaOH" เพื่อให้ 50 เปอร์เซ็นต์ NaOH solution ไหลเข้าสู่ digestion tube สารละลายใน digestion tube จะเกิดฟองแก๊สขึ้น กดปุ่ม added NaOH ไปเรื่อยๆ จนไม่เกิดฟองขึ้น (สารละลายใน digestion tube จะขุ่นมีตะกอน) เติม 50 เปอร์เซ็นต์ NaOH ให้มากเกินพออีกประมาณ 10 มิลลิลิตร ถ้าในตัวอย่างอาหารมีสารประกอบไนโตรเจนมาก สีของสารละลาย boric acid + tashiro indicator จะเริ่มเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเขียว ในขั้นตอนนี้จะต้องปล่อยให้น้ำไหลเข้า condenser ตลอดเวลาเพื่อให้แก๊ส NH_3 ควบแน่นลงสู่ flask ที่บรรจุ boric acid
5. โยกคันโยกมาที่ตำแหน่ง distillation เพื่อให้ ไอน้ำเข้าไปใน digestion tube และปล่อยให้เกิดการกลั่นจนได้สารละลายใน flask ที่มี boric acid อยู่มีปริมาณ ประมาณ 300 มิลลิลิตร
6. เมื่อกลั่นจนได้ปริมาตร เป็น 300 มิลลิลิตร แล้วให้โยกคันโยกมาที่ตำแหน่ง stand by
7. ถอด digestion tube ออก นำ flask ที่มี boric acid +tashiro indicator ไป titrate กับสารละลาย standard H_2SO_4 ความเข้มข้นประมาณ 0.5 N จนถึงจุดยุติสารละลายใน flask จะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงอ่อน

3.3 การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของกรด H_2SO_4

1. เตรียมสรละลาย NaOH 1.0 N, Standard $C_8H_5KO_4$ 0.4 สารละลาย H_2SO_4 0.5 N ปิเปตสารละลาย NaOH 1N มา 10 ทส. G9b, Phenopthalene 2-3 หยด นำไป
2. ไตเตรทกับ Standard $C_8H_5KO_4$ 1.4 N ที่จุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนจากชมพู เป็น ใสไม่มีสี แล้วคำนวณความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย NaOH โดยใช้สมการ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

N_{NaOH} = $(N_{pa} * V_{pv}) / V_{NaOH}$

โดยที่ N_{NaOH} = normality of NaOH

N_{pa} = normality of $C_8H_5KO_4$

V_{NaOH} = ปริมาตรของ $C_8H_5KO_4$ ในการไตเตรท

3. ปิเปตสารละลาย NaOH ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนแล้วจากข้อ 2. 10 มิลลิลิตรเติม Phenopthalene 2-3 หยด นำไปไตเตรทกับสารละลาย H_2SO_4 สารละลายจะเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นใส ไม่มีสี คำนวณความเข้มข้นของสารละลาย โดยใช้สมการ

$$N_{acid} = (N_{base} * V_{base}) / V_{acid}$$

โดยที่ N_{acid} = ความเข้มข้นของสรละลาย H_2SO_4 เป็น normal

V_{acid} = ปริมาตรของสารละลาย H_2SO_4 ที่ใช้ในการไตเตรท

N_{base} = ความเข้มข้นของสารละลาย NaOH ที่เป็น normal

V_{base} = ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ (10 มิลลิลิตร)

การคำนวณหาปริมาณโปรตีน

$$\text{เปอร์เซ็นต์ protein} = \frac{1400 * Vs * Ns * Np}{\text{wt. of sample (g)} * 1000}$$

โดยที่ Ns = ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ ไตรเตรท

Vs = ปริมาตรของกรดที่ใช้ในการไตรเตรทเป็นมิลลิลิตร

Np = conversion factor

4. การหาความชื้น (Satorious manual)

1. เปิดเครื่อง Satorious Thermocontrol โดยเปิดสวิทซ์ด้านหลังเครื่องชั่งน้ำหนัก กดสวิทซ์ ON ที่ด้านหน้าของส่วนเครื่องชั่งน้ำหนัก ที่หน้าปัดจะแสดงค่า เปอร์เซ็นต์ความชื้น และน้ำหนักเท่ากับศูนย์

2. ไล่ความชื้นของถาดอลูมิเนียมออกโดยการยกฝาส่วน hood ขึ้นและใส่ถาดอลูมิเนียมลงบนแผ่นชั่งน้ำหนักของส่วนเครื่องชั่งน้ำหนัก ปิดฝา hood ลง เครื่องจะเริ่มทำงาน หลอดไฟจะให้แสง infrared ออกมาเป็นสีส้มแดง บนหน้าปัดจะแสดงน้ำหนักถาด และ เปอร์เซ็นต์ความชื้นของถาด เมื่อความชื้นของถาดลดลง แสง infrared จะหรี่และดับลงในที่สุด และมีเสียงสัญญาณดังขึ้นเมื่อความชื้นหมดไปจากถาด
3. กดสวิทซ์ TARE ทั้งน้ำหนักและเปอร์เซ็นต์ความชื้นจะแสดงเป็นศูนย์ เปิดฝา hood ขึ้น ใส่ตัวอย่างไปประมาณ 2-5 กรัม ปิดฝา hood ลง และรอเสียงสัญญาณอ่านค่าตัวเลขที่บอกความชื้น ซึ่งเป็นเปอร์เซ็นต์ความชื้นของตัวอย่าง

5. การสกัดไขมันออกจากปลาป่น (Blight and Dyer, 1959)

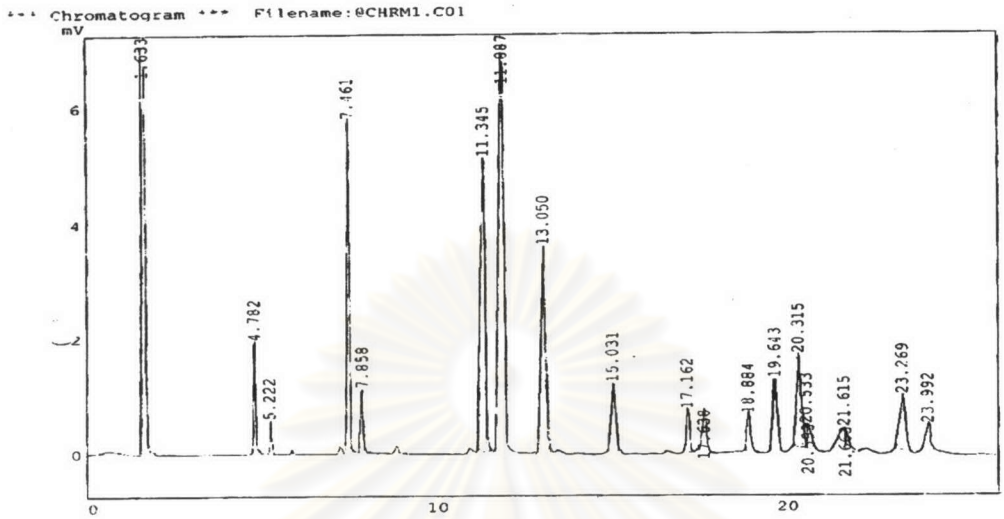
1. นำปลาป่น 30 กรัม เติมน้ำกลั่น 70 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันทิ้งไว้ 1 นาที
2. เติม คลอโรฟอร์ม-เมทานอล (1:2) 300 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 2 นาที
3. เติมคลอโรฟอร์ม 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดีทิ้งไว้ 30 วินาที
4. เติมน้ำกลั่นลงไป 100 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 นาที
5. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1
6. และแยกโดยใช้กรวยแยกขนาด 1 ลิตร เขย่า1 นาที เอาอากาศออกด้วยไนโตรเจน และทิ้งไว้ให้แยกชั้นอย่างน้อย 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง
7. หลังจากนั้นจะแยกชั้นนำชั้นบนทิ้งส่วนชั้นล่าง นำไปใส่ flask ขนาด 1 ลิตร และแยกเอาน้ำออกด้วย Na_2SO_4
8. กรองและนำไประเหยให้แห้ง นำตัวอย่างที่ได้ไปหาน้ำหนัก

Crude lipid (เปอร์เซ็นต์); Diet : A/30 *100

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

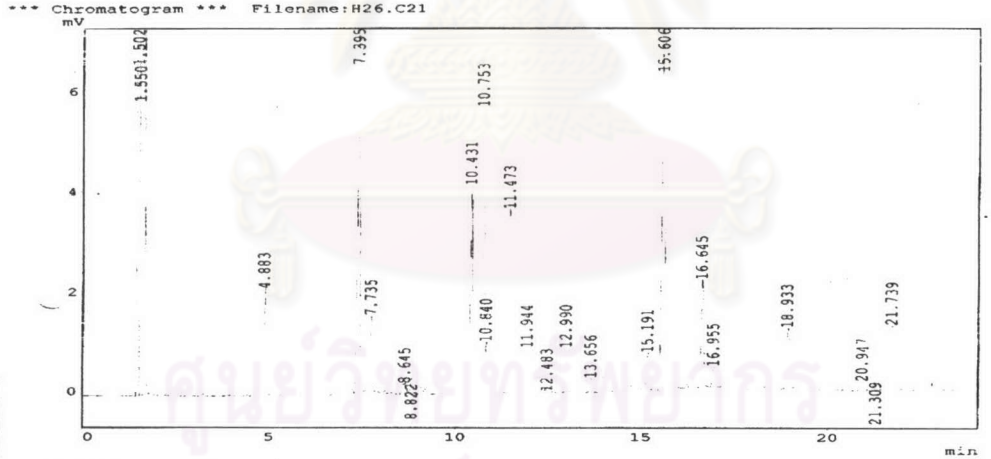
ภาคผนวก ค

แสดงโครมาโตแกรมกรดไขมันตัวอย่าง (Reference standard 68B)



แสดงโครมาโตแกรมของอาหารทดลอง

```
CLASS-GC10 Ver.=1.61  SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=5  DATA=H26.D21 02/10/01 09:41:46
Sample          : fed for brsk1
ID              : 2
Dilution Factor: 1
Type            : Unknown
Detector        : FID
Operator        : Jatuporn
```



*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.502	3067668	1067854	E		43.6794	
2	1.550	3744143	1067272	VE		53.3115	
3	4.883	6156	2130			0.0876	
4	7.395	37017	9348	V		0.5271	
5	7.735	5396	1500			0.0768	
6	8.645	1558	207			0.0222	
7	8.822	1402	316	V		0.0200	
8	10.431	18504	4155			0.2635	
9	10.753	25263	5661			0.3597	
10	10.840	3548	966	V		0.0505	
11	11.473	16424	3650			0.2339	
12	11.944	3747	872			0.0533	
13	12.483	1211	293			0.0172	
14	12.990	1134	275			0.0161	
15	13.656	1243	274			0.0177	
16	15.191	3398	756			0.0484	
17	15.606	51692	10109			0.7360	
18	16.645	10028	2159			0.1428	
19	16.955	2008	409			0.0286	
20	18.933	7904	1214			0.1125	
21	20.947	1035	158			0.0147	
22	21.309	1657	225			0.0236	
23	21.739	11018	1283			0.1569	
		7023151	2181084			100.0000	

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวปนัดดา มีจริง เกิดวันศุกร์ที่ 27 พฤษภาคม พ.ศ. 2520 ที่จังหวัดจันทบุรี เข้ารับการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้นโรงเรียนท่าใหม่พูลสวัสดิ์ราฎร์นุกูล และระดับมัธยมศึกษาตอนปลายโรงเรียนเบญจมราชูทิศ จันทบุรี สอบเข้าศึกษาระดับปริญญาตรีในสาขาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา สำเร็จการศึกษาเมื่อปี พ.ศ. 2542 หลังจากนั้นสอบเข้าศึกษาต่อระดับปริญญาโท แขนงวิชาชีววิทยาทางทะเล สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ. 2543 และได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการบัณฑิตภายในประเทศ ของสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ปี พ.ศ. 2544

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย