

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กรมประมง. 2521. คู่มือการเลี้ยงปลากะพงขาว. เอกสารคำแนะนำ กรมประมง.
กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2536. การเลี้ยงปลาน้ำกร่อย. เอกสารคำแนะนำ
นำกองส่งเสริมประมง กรมประมง
- ขนิษฐา เขตสมุทร. 2524. การเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชัง. เอกสารวิชาการฉบับที่ 8.
งานจัดและพัฒนาที่ดินชายทะเล กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง.
- จรัญ จันทลักขณา. 2534. สถิติวิธีวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย. พิมพ์ครั้งที่ 6
กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช จำกัด
- จารุรัตน์ บุรณะพานิชย์กิจ, มะลิ บุญรัตน์ผลิน, ทะเคชิ วานาเบ และธิดา เพชรมณี
2531. ความต้องการกรดไขมันที่จำเป็นของปลากะพงขาววัยรุ่น,
Lates calcarifer. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 3/2531 สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ
ชายฝั่ง จังหวัดสงขลา, 2531
- เฉลิมวิไล ชื่นศรี. 2523. ความรู้เรื่องเกี่ยวกับการเลี้ยงปลากะพงขาวทั่วไป. คณะประมง
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- บุญส่ง สิริกุล และประกิต ไกรสิงห์เดชา. 2525. การทดลองเลี้ยงปลากะพงขาวในบ่อ
ซีเมนต์ด้วยอาหารผสม รายงานผลการปฏิบัติงานทางวิชาการประจำปี
2525. สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา กรมประมง.
- บุญศรี บุญเรือง, อุดม ปาเตีย และพินิจ กังวานกิจ. 2512 รายงานเบื้องต้นเกี่ยวกับการ
สำรวจและรวบรวมลูกปลากะพงขาววัยอ่อน ในรายงานประจำปี 2512.
ภูเก็ต:กรมประมง สถานีประมงภูเก็ต
- ประวิม วุฒิสินธุ์ และ สุวรรณ นอกกระโทก. 2522. การทดลองเลี้ยง ปลากะพงขาวอายุ
15-45 วัน ด้วยอาหารชนิดต่าง ๆ กัน. รายงานประจำปี 2518-2522. สถานี
ประมงจังหวัดระยอง กรมประมง

วิเชียร สาคเรศ. 2526. การเลี้ยงปลากะพง. สถานีประมงจังหวัดระยอง กรมประมง.
(อัครสำเนา)

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. กรุงเทพมหานคร : โอ.เอส พรินติ้งเฮ้าส์.

สวัสดิ์ วงศ์สมนึก และสุจินต์ มณีวงศ์. 2516. การทดลองเพาะพันธุ์ปลากะพงขาว
(*Lates calcarifer*. Bloch) โดยวิธีผสมเทียม. รายงานผลการปฏิบัติงานทาง
วิชาการประจำปี 2516-2517. สถานีประมงทะเลสงขลา

สุจินต์ มณีวงศ์ และ นิเวศน์ เรืองพานิช. 2521. การทดลองเลี้ยงปลากะพงขาววัยอ่อน
ด้วยโรติเฟอร์ (*Brachionus plicatilis*) กับไรแดง (*Moina* spp.). รายงานผล
การปฏิบัติงานทางวิชาการประจำปี 2521. สถานีประมงทะเลสงขลา
กรมประมง.

สุจินต์ มณีวงศ์ นิเวศน์ เรืองพานิช ธิดา เพชรรมณี และ ชูานันต์ ทัดตานนท์. 2524.
การเพาะพันธุ์ปลากะพงขาว. สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา
กรมประมง.

สโมสรมนีสิตคณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2531. โครงการเผยแพร่ความรู้
ทางการประมง. (อัครสำเนา)

อำนาจ โชติญาณวงษ์. 2525. อาหารปลา. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภาษาอังกฤษ

Association of Official Analytical Chemists. 1980. *Official Method Analysis* 13th ed.
Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.

Bell, M.V., Henderson, R.J., Pirie, B.J.S., and Sargent, J.R. 1985. Effects of dietary
polyunsaturated fatty acid deficiencies on mortality, growth and gill
structure in the turbot *Scophthalmus maximus*. *J. Fish. Biol.* 26 : 181-191.

Castell, J.D., Lee, D.J., and Sinnhuber, R.O. 1972a. Essential fatty acids in the diet
of rainbow trout (*Salmo gairdneri*); lipid metabolism and fatty acid
composition. *J. Nutr.* 102 : 93-100.

- Castell, J.D., Lee, D.J., and Sinnhuber, R.O. 1972b. Essential fatty acids in diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) : physiological symptoms of fatty acid deficiency. *J. Nutr.* 102 : 87-92.
- Castell, J.D., Lee, D.J., and Sinnhuber, R.O. 1972c. Essential fatty acid in the diet of rainbow trout(*Salmo gairdneri*) : growth feed conversion and some gross deficiency symptoms. *J.Nutr.* 102 : 77-86.
- Castell, J.D., 1979. Review of lipid requirements of finfish. *Proc. World Symp. on Finfish Nutrition and Fish feed Technology.* pp. 59-84.
- Corneillie, S. 1989. Influence of n-3 poly unsaturated fatty acid and light intensity on the survival, growth, and morphological development of the larvae of the seabass, *dicentrachus labrax*. Doctoral dissertation, Catholic University of leuven, Belgium.
- Cowey, C.B., Owen, J.M., Adron, J.W., and Middleton, C. 1976. Studies on the nutrition of marine flatfish. The effect of different dietary fatty acids on the growth and fatty acid composition of turbot (*Scophthalmus maximus*). *Brit. J. Nutrition* 36 : 479-486.
- Cowey, C.B.,and Sargent J.R. 1979. Nutrition. In:*Fish Physiology Vol. VIII.* Newyork: Academic Press. pp 1-69.
- Egan, H., Kirk, R.S., and Sawyer, R. 1981. *Rearson's Chemical Analysis of Foods.* eight edition. Longman Scientific and Technical. p 591.
- Hepher, B. 1988 *Nutrition of pond Fishes.* Newyork : Cambridge University Press. p. 388.
- Higashi, H., Kaneko, T., Ushiyama, M., and Sugihashi, T. 1964. Effects of dietary lipids on fish under cultivation II. Effect of ethyl linoleate, linolenate and ethyl esters of polyunsaturated fatty acids on deficiency of essential fatty acids in rainbow trout. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.* 30 : 778-783.

- Honjo, T. 1965. The effect of cod liver oil to the growth and the content of vitamin A in rainbow trout. *Aquaculture* 13 : 15-21.
- Izquierdo, M.S., Watanabe, T., Takeuchi, T., Arakawa, T., and Kitajima, C. 1989 Essential fatty acids requirement of larval red sea beam (*Pagrus major*) *Artemia newsletter number* 14 : 50-51
- Jauncey, K.J., and Ross, B. 1982 *A guide to tilapia feeds and feeding*. Institute of Aquaculture. University of Stirling. Scotland p. 111.
- Kanazawa, A., Teshima, S., Sakamoto, M., and Awal, A. 1980. Requirement of *Tilapia zillii* for essential fatty acids. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.* 46 (11) : 1353-1356.
- Kanasawa, A. 1985. Essential fatty acid and lipid requirement of fish. *Nutrition and Feeding of Fish*. London : Academic Press. pp. 281-298.
- Lee, D.J., and Patnam , G.B. 1973. The response of rainbow trout to varying protein/energy ratios in a test diet. *J. Nutr.* 103 : 916-922.
- Marshall, T. 1960. *Fish of the Great Barriers Reef and Coustal Water of Queensland*. Sydney: Halsted Press.
- Maynard, L.A., and Loosli , J.K. 1969 *Animal Nutrition*. sixth edition. McGraw-Hill Book Company. p. 613.
- Muroe, Ian S.R. 1955. *The Marine and Fresh water Fishes of Ceylon*. Camberra: Depart. of External Affairs.
- Nelson, S. 1976. *Fish of the World*. London: John Wiley & Sons.
- National Research Council (NRC). 1983. *Nutrient requirement of warmwater fishes and shellfishes*. National academy Press, Washington, D.C. pp. 7-13.
- Owen, J.M. 1975. Elongation and desaturation of dietary fatty acid in turbot (*Scophthalmus maximus*) and rainbow trout. *Lipid.* 10 (9) : 528-531.

- Phillips, A.M.Jr., Livingston, D.L., and Doston, H.A. 1963. The effect of diet mixture and calorie source on growth, mortality, conversion and chemical composition of brook trout. *Prog. Fish-Cult.* 25 : 8-14.
- Sargent, J., Henderson, R.J., and Tocher, D.R. 1989. *The lipids Fish Nutrition* Second Edition.
- Sorgeloose, P., Bergtson, D.A., Decles, W., and Jaspers, E. 1993. Intercalibration Exercise on the Qualitative and Quantitation of Analysis of Fatty Acid in Artemia and Marine Sample. *Larviculture Artemia Newsletter.* 27:37-50.
- Strickland, D.H., and Parson, T.R. 1972. *A Practical Handbook of Sea Water Analysis.* Fisheries Research Board of Canada, Ottawa, Canada.
- Takeuchi, T., and Watanabe, T. 1977. Requirement of carp for essential fatty acids. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.* 43(5) : 541-551.
- Takeuchi, T., Watanabe, T., and Ogino, C. 1979. Requirement for essential fatty acids of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in freshwater environment. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.* 45(10) : 1319-1323.
- Takeuchi, T., Watanabe, T., and Ogino, C. 1980. Requirement of eel, *Anguilla japonica* for essential fatty acids. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.* 46(3) : 345-353.
- Takeuchi, T., Watanabe, T., and Ogino, C. 1982. Effects of various polyunsaturated fatty acids on growth and fatty acid compositions of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* and chum salmon, *O. keta*. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish* 48(12) : 1745-1752.
- Takeuchi, T., Watanabe, T., and Ogino, C. 1983. Requirement of *Tilapia nilotica* for essential fatty acids. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.* 49 : 1127-1134.

- Takeuchi, T., Satoh, S., and Watanabe, T. 1989. Comparison between exicosapentaenoic and docosahexaenoic acid in terms of essential fatty acid efficiency for marine fish species. *Larviculture Artemia Newsletter*. pp. 50-51.
- Watanabe, T., Ogino, C., Koshushi, Y., and Matsunaga, T. 1974 Requirement of rainbow trout for essential fatty acids. *Bull Jpn. Soc. Sci Fish.* 40(5) : 453-491.
- Watanabe, T., Utsue, O., Kabayashi, I., and Ogino, C. 1975 a. Effect of dietary methyl linoleate and linolenate on growth of carp. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.* 41(2) : 257-262.
- Watanabe, T., Utsue, O., Kabayashi, I., and Ogino, C. 1975 b. Effect of dietary methyl linoleate and methyl linolenate on growth of carp II : *Bull. Japan Soc. Sci.* 41(2) : 263-269.
- Watanabe, T., Utsue, O., Kabayashi, I., and Ogino, C. 1982. Lipid nutrition in fish. *Comp. Biochem. physiol.* 73 : 3-15.
- Watanabe, T., Arakawa, T., Takeuchi, T., and Kitajima, C. 1987. Essential fatty acid requirement of juvenile striped jack, *Longirostris delicatissima*. abstracts *International symposium on feeding and nutrition in fish*. p. 26.
- Yamada, K., Kobayashi, K., and Yone, Y. 1980 Conversion of linolenic acid to n-3 highly unsaturated fatty acid in marine fishes and rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* 46(10) : 1232-1233.
- Yone, Y., and Fujii, M. 1975 a. Studies on nutrition of red sea bream XI. Effect of ω 3 fatty acid supplement in a corn oil diet on growth rate and feed efficiency. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.* 41(1) : 73-77.
- Yone, Y., Fujii, M. 1975 b. Studies on nutrition of red sea bream XII. Effect of ω 3 fatty acid supplement in a corn oil diet on growth rate and feed efficiency. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.* 41(1) : 79-86.



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์

ก.1 การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น

ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC 7.007

อุปกรณ์

Sartorius Thermo Control รุ่น YTE01L

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ใส่ในถาดอลูมิเนียมที่แห้งสนิท
2. นำตัวอย่างเข้าเครื่องอบหาความชื้นในอุปกรณ์ดังกล่าว เมื่อเครื่องเริ่มทำงานหลอดไฟจะให้แสง อินฟราเรดออกมาเป็นแสงสีส้มแดง บนหน้าปัดจะแสดงน้ำหนักถาด และเปอร์เซ็นต์ความชื้นของถาด เมื่อความชื้นของถาดลดลงแสงอินฟราเรดจะหรี่และดับลงในที่สุด และมีเสียงสัญญาณดังขึ้นเมื่อความชื้นหมดไปจากถาดตัวอย่าง

ก.2 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC 7.024

อุปกรณ์

Gerhardt Kjeldatherm Digestion Unit

Gerhardt Vapodest 1

สารเคมี

1. สารละลายกรด sulphuric เข้มข้น
2. สารละลายกรด sulphuric เข้มข้น 0.1 N
3. สารละลาย sodium hydroxide เข้มข้น 50 %
4. สารละลายกรด boric เข้มข้น 4 %
5. Catalyst (ส่วนผสมของ K_2SO_4 และ Se ในอัตราส่วน 1000 : 1)

6. Indicator ซึ่งเป็นส่วนผสมของ Methyl Red และ Methylene Blue

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างแห้งมา 2 กรัมใส่ลงในหลอดย่อย
2. เติม Catalyst 1 เม็ด
3. เติมสารละลายกรด sulphuric เข้มข้น 25 มิลลิลิตร
4. นำหลอดย่อย ไปใส่ในเครื่อง Kjeldatherm พร้อมทั้งประกอบท่อดูด
คว้นระบบสูญญากาศทิ้งให้เกิดการย่อยจนได้สารประกอบสีดำประมาณ 20 นาที
5. เริ่มตั้งอุณหภูมิเครื่องไว้ที่ประมาณ 100 องศาเซลเซียส แล้วเพิ่ม
อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ทุกๆ 15 - 20 นาที จนอุณหภูมิถึง 380 องศาเซลเซียส
6. ปลอ่ยให้เกิดการย่อยจนสมบูรณ์ จะได้สารละลายเป็นสีเหลืองอ่อนใส
ปลอ่ยให้สารละลายมีอุณหภูมิลดลงจนถึงอุณหภูมิห้อง เติมน้ำกลั่นประมาณ 90 มิลลิลิตร
7. กลั่นตัวอย่างที่ย่อยแล้วด้วยเครื่อง Vapodest 1 โดยใช้สารละลายกรด
sodium hydroxide เข้มข้น 50 % เป็นตัวทำปฏิกิริยาและเก็บสารที่กลั่นได้ในสารละลาย
กรด boric ซึ่งเติม Indicator 5 - 6 หยด

8. ไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรด sulphuric เข้มข้น 0.5 N

$$\text{ปริมาณโปรตีน} = \frac{A \times B \times 6.25 \times 1.4}{C}$$

A = normality ของกรด sulphuric ที่ใช้ไตเตรท

B = ปริมาณกรด sulphuric ที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

C = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

ก.3 การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

ตามวิธีของ AOAC 7.062

อุปกรณ์

Soxtherm Automatic รุ่น S-11

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างแห้ง 2 กรัมแล้วห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman NO.1 โดยห่อ 2 ชั้น
 2. ใส่ห่อตัวอย่างใน thimble ซึ่งบรรจุในขวดสกัดที่แห้งสนิทและทราบน้ำหนักที่แน่นอน
 3. เติม Petroleum ether ซึ่งใช้เป็นตัวสกัด ประมาณ 80 มิลลิลิตรลงในขวดสกัด
 4. นำขวดสกัดไขมันไปประกอบกับเครื่อง Soxhlet ทนอุณหภูมิ silicone oil ซึ่งเป็นตัวถ่ายเทความร้อนให้กับอุปกรณ์ที่ใช้สกัดไว้ที่ 150 องศาเซลเซียส
 5. ปลอ่ยให้เกิดการสกัดเป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการระเหย petroleum ether ออกจากส่วนไขมันที่สกัดได้ แล้วอบขวดสกัดไขมันที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงหรือจนน้ำหนักคงที่
 6. เมื่อขวดสกัดเย็นลงแล้วนำไปชั่งน้ำหนักละเอียด
- $$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{\text{ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

ก.4 การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

ตามวิธีของ AOAC 7.009

อุปกรณ์

Furnace muffle

Crucible

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างแห้ง 2 กรัม ใส่ใน crucible ที่แห้งสนิทและรู้น้ำหนักที่แน่นอน
2. นำตัวอย่างเข้าเผาใน furnace muffle ที่ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
3. ทำให้เย็นใน dessicator แล้วชั่งน้ำหนัก

$$\text{ปริมาณ (\%)} = \frac{\text{ปริมาณเถ้า (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

ก.5 การวิเคราะห์หาปริมาณเส้นใย

ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC 7.073

อุปกรณ์

ชุดวิเคราะห์เส้นใยของ Gerhardt รุ่น RF - 16 / 6 ซึ่งประกอบด้วย hot plate, beaker 600 มิลลิลิตร และ round condencer

สารเคมี

1. สารละลายกรด sulphuric เข้มข้น 0.3 N
2. สารละลาย sodium hydroxide เข้มข้น 0.3 N
3. 95 % ethyl alcohol

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างแห้งที่สกัดไขมันออกแล้วใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดลงไป 200 มิลลิลิตร จากนั้นต่อ round condencer เข้ากับบีกเกอร์เพื่อรักษาระดับของกรดให้คงที่ขณะย่อยซึ่งใช้เวลาประมาณ 30 นาที
2. กรองส่วนผสมผ่านกระดาษกรองชนิดที่ไม่มีเถ้าซึ่งรู้น้ำหนักที่แน่นอนล้างส่วนที่ติดบนกระดาษกรองที่น้ำกลั่นจนหมดความเป็นกรด
3. ล้างส่วนที่ติดบนกระดาษกรองด้วยสารละลาย sodium hydroxide 200 มิลลิลิตร จากนั้นย่อยต่อไปอีก 30 นาที
4. กรองส่วนผสมด้วยกระดาษกรองแผ่นเดิมแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นจนหมดความเป็นด่าง จากนั้นล้างด้วย alcohol 100 มิลลิลิตร
5. นำกระดาษกรองและตัวอย่างที่ติดอยู่ไปอบให้แห้ง แล้วใส่ใน crucible เพื่อหาปริมาณเถ้าที่เหลืออยู่
6. ทิ้งให้เย็นใน dessicator แล้วชั่งน้ำหนัก crucible

$$\text{ปริมาณเส้นใย (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไประหว่างเผาเถ้า (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

ข. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมัน

ปริมาณกรดไขมันในอาหาร วิธีการวิเคราะห์ดัดแปลงมาจากวิธีของ Artemia Reference Center (Sorgeloose *et al.*, 1993) บดตัวอย่าง ชั่งน้ำหนัก ใช้ chloroform ใน methanol เป็นตัวสกัดไขมันในตัวอย่าง สารละลายตัวอย่างที่ได้จะนำมาผ่านขบวนการ esterification ให้ได้กรดไขมัน สารละลายตัวอย่างที่ได้จะนำไปฉีดเข้าเครื่อง Gas Chromotography (GC FISON Model 800)

หลักการของแก๊สโครมาโตกราฟี

โครมาโตกราฟีเป็นวิธีการที่ทำให้สารผสมที่อยู่ใน phase หนึ่งแทรกตัว (percolate) ผ่านไปยังอีก phase หนึ่งที่อยู่กับที่ (stationary phase) ซึ่งมีพื้นผิวมาก percolating phase ซึ่งมีสารที่ต้องตรวจหาอาจเป็นของเหลวหรือแก๊สก็ได้ และ station phase นั้น อาจเป็นของแข็งหรือของเหลวที่เคลือบติดอยู่กับสารดูดซับ (adsorbent) ที่เหมาะสม โครมาโตกราฟีเป็นเครื่องมือที่ mobile phase เป็นแก๊ส และอาจจะแบ่งออกเป็น 2 แบบคือ แก๊สของโครมาโตกราฟี (gas-solid chromatography) ซึ่งมีของแข็งเป็น phase ที่ไม่เคลื่อนที่ (immobile phase) และอีกแบบหนึ่งคือ แก๊สของเหลวโครมาโตกราฟี (GLC) ซึ่งบางทีเรียกว่า gas-liquid partition chromatography (GLPC) ซึ่งมีของเหลวเป็น phase ไม่เคลื่อนที่ ของเหลวที่ใช้จะถูกเคลือบไว้ที่ผิวด้านในของคอลัมน์ (เช่นในกรณีของ open-tubular หรือ capillary operation) หรือเคลือบที่ผิวของของแข็งแล้วบรรจุในคอลัมน์ (packed-column operation) เช่น diatomaceous earth, Teflon powder, fine glass beads (stationary phase) ชนิดเหลวสามารถนำมาเคลือบบนผิวของของแข็งดังกล่าว โดยเอามาละลายในตัวทำละลายที่ระเหยง่าย เช่น อีเธอร์ หรือ คลอโรฟอร์ม แล้วนำของแข็งที่จะใช้บรรจุคอลัมน์มาแช่ลงไป ตัวอย่างเช่น การเคลือบเม็ดแก้วละเอียด (fine glass beads) ด้วยโพลีเอทิลีนไกลคอล (polyethylene glycol) โดยการละลายโพลีเมอร์ในอีเธอร์ เทเม็ดแก้วลงไป คนให้ทั่วหลาย ๆ ครั้งพร้อมกับระเหยเอาอีเธอร์ออกในที่สุดจะได้เม็ดแก้วเคลือบผิวด้วยโพลีเอทิลีนไกลคอลตามที่

ต้องการ โพลีเอทรีลีนไกลคอลจะอยู่ในสถานะของเหลวและเคลือบบนผิวเม็ดแก้วเป็นฟิล์มบาง ๆ ในอุณหภูมิทดลองที่เหมาะสม

วิธีการวิเคราะห์กรดไขมัน

1. นำตัวอย่างที่ต้องการศึกษามาทำให้เป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ลงในบีกเกอร์ ขนาด 50 ml
2. นำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง Freeze dryer เป็นเวลา 1 คืน
3. นำตัวอย่างที่ทำการระเหยแห้งแล้วมาบดละเอียดแล้วเติม 30 ml chloroform : Methanol (ในอัตราส่วน 2 : 1) mix ให้เข้ากันแช่ทิ้งไว้ 1 คืน
4. นำตัวอย่างในข้อ 3 มากรอง เก็บส่วนที่เป็นสารระเหยด้วยเครื่อง Evaporatory จนแห้งน้ำมันที่ได้นำไปทำ Esterification เป็นขั้นตอนต่อไป

การทำ ESTERIFICATION

1. ทำการเจือจางน้ำมันอัตราส่วน 1 : 10 ด้วย Hexane
2. ปิเปิดน้ำมันจากข้อ 1 มา 0.1 ml ใส่ในขวด reaction vial ขนาด 30 ml แล้วเติม 5 ml ของ 5% Acetyl chloride ใน Methanol (นำ Methanol ใส่ในบีกเกอร์ที่แช่น้ำแข็งแล้วค่อยๆเติม Acetyl chloride ลงไป) และเติม internal standard (C 19 : O 2000 ppm) 0.2 ml ผสมให้เข้ากัน แล้วปิดฝาขวด reaction vial ภายใต้อากาศ Nitrogen
3. นำไปต้มโดยให้ความร้อน 100°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
4. นำสารละลายในข้อ 3. มาแบ่งใส่หลอดขนาด 10 ml 2 หลอด เติมแต่ละหลอดด้วย 6% Potassium carbonate 3 ml และ Hexane 3 ml นำไป centrifuge 4000 rpm 5 นาที
5. คูตสารละลายชั้น Hexane เก็บไว้ แล้วทำซ้ำในข้อ 4 อีกครั้ง
6. คูตสารละลายชั้น Hexane ที่ได้ไปกรองผ่าน Na_2SO_4 (อบที่อุณหภูมิ 60°C 20 ชั่วโมง) แล้วนำไประเหยด้วยเครื่อง Evaporatory จนแห้งแล้วเติม Hexane 1 ml เตรียมนำไปฉีด Gas chromatography (G.C.)

สภาวะเครื่อง Gas Chromatography

Instrument : G.C HRGC MEGA 2 series (Fison instrument, Italy)
 Detector : Flame ionization detector (Temperature at 300°C)
 Injector : Split 20:1 (Temperature at 250°C)
 Column : DB-WAX 30 mΦ.ID 0.25 mmΦ. film thickness 25 μm
 (J&W scientific, USA)

Operation conditions:

Temperature	180°C	for	4 min
	180°C	$\xrightarrow{5^\circ\text{C}/\text{min}}$	200°C for 65 min
	200°C	$\xrightarrow{20^\circ\text{C}/\text{min}}$	220°C for 15 min

Carrier gas : N₂ 2 ml/min

Make up gas : N₂ 30 ml/min

Hydrogen : 30 ml/min

Air : 300 ml/min

Peak integration was and calculated with the Chrom Card software version 2.1
 (Fison Instrument, Italy)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์กรดไขมันในอาหาร

สารเคมี	แหล่งที่มา
Reference standard GLC 68B methylester ¹	NU CHEK PREP, INC., USA
Eicosapentaenoic acid (C 20:5)	NU CHEK PREP, INC., USA
Internal standard nonadecanoic acid(C19:0)	NU CHEK PREP, INC., USA
Acetyl chloride ²	Sigma, USA
Sep-Pak silica	Waters Associates, Milford, MA, USA
Chloroform (AR grade)	Mallinkrodt., USA
Methanol (AR grade)	Mallinkrodt., USA
Na ₂ SO ₄ anhydrous (AR grade)	Mallinkrodt., USA
KCl (AR grade)	Mallinkrodt., USA

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 13 ปริมาณกรดไขมัน standard

Chain	Fatty acid	% by weight
C14:0	Methyl myristate	3.0
C14:1	Methyl myristoleate	1.0
C16:0	Methyl palmitate	10.0
C16:1	Methyl plamitoleate	2.0
C18:0	Methyl stearate	15.0
C18:1	Methyl oleate	25.0
C18:0	Methyl linoleate	10.0
C20:0	Methyl arachidate	4.0
C20:1	Methyl 11-eicosenoate	2.0
C20:2	Methyl 11-14 eicosadienoate	2.0
C20:3	Methyl homogammalinolenate	4.0
C20:4	Methyl arachidonate	4.0
C22:0	Methyl behenate	4.0
C22:6	Methyl erucate	2.0
C24:1	Methyl lignocerate	2.0
C22:0	Methyl docosahexaenoate	4.0
C24:1	Methyl nervonate	4.0

ภาคผนวก ข

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน

Class	Levels	Values
TRT	4	1 2 3 4
SAL	4	0 10 20 30

Number of observations in data set = 4800

ตารางที่ 14 แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน เพื่อหาความแตกต่างของการเติบโต
ปลากระพงขาว *Lates calcarifer* ซึ่งเลี้ยงด้วยอาหาร 4 สูตร ที่ 4 ระดับความ
เค็ม

Dependent Variable: WT

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	3	3768.497907	1256.165969	217.35	0.0001
SAL	3	136.634202	45.544734	7.88	0.0001
TRT*SAL	9	109.220358	12.135595	2.10	0.0263

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	3	3766.307752	1255.435917	217.22	0.0001
SAL	3	136.208545	45.402848	7.86	0.0001
TRT*SAL	9	109.220358	12.135595	2.10	0.0263

ตารางที่ 15 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของปลากระพงขาวที่
สูตรอาหารต่าง ๆ

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	4.4534	1200	3
B	3.5788	1200	2
C	3.0499	1200	1
D	2.0064	1200	4

ตารางที่ 16 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของปลากระพงขาว
ที่ระดับความเค็มต่าง ๆ

Duncan Grouping	Mean	N	SAL
A	3.4580	1200	20
A			
B A	3.3946	1200	10
B			
B C	3.2044	1200	30
C			
C	3.0263	1200	0

ตารางที่ 17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน เพื่อหาค่าความแตกต่างของ
น้ำหนักเฉลี่ยปลากระพงขาว ที่เวลา 0

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Squares	Signif F	of F
Main Effects	.003	6	.001	.887	.504
TRT	.002	3	.001	1.078	.358
SAL	.001	3	.000	.696	.554
2- way Interactions	.002	9	.000	.391	.940
TRT SAL	.002	9	.000	.391	.940
Explained	.006	15	.000	.590	.885
Residual	.603	944	.001		
Total	.608	959	.001		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 18 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน เพื่อหาค่าความแตกต่างของ
น้ำหนักเฉลี่ยปลากระพงขาว ที่เวลา 2

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Squares	Signif F	of F
Main Effects	23.371	6	3.895	3377.834	.000
TRT	22.778	3	7.593	6584.262	.000
SAL	.593	3	.198	171.407	.000
2- way Interactions	.306	9	.034	29.437	.000
TRT SAL	.306	9	.034	29.437	.000
Explained	23.677	15	1.578	1368.796	.000
Residual	1.089	944	.001		
Total	24.766	959	.026		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 19 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน เพื่อหาค่าความแตกต่างของ
น้ำหนักเฉลี่ยปลากระพงขาว ที่เวลา 4

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Squares	Signif F	of F
Main Effects	186.082	6	31.014	2696.326	.000
TRT	172.180	3	57.393	4989.789	.000
SAL	13.901	3	4.634	402.564	.000
2- way Interactions	21.337	9	2.371	206.112	.000
TRT SAL	21.337	9	2.371	206.112	.000
Explained	207.418	15	13.828	1202.198	.000
Residual	10.858	944	.012		
Total	218.276	959	.228		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 20 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน เพื่อหาค่าความแตกต่างของ
น้ำหนักเฉลี่ยปลากระพงขาว ที่เวลา 6

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Squares	Signif F	of F
Main Effects	1820.745	6	303.458	16076.614	.000
TRT	1722.113	3	574.038	30411.400	.000
SAL	98.632	3	32.877	1741.788	.000
2- way Interactions	88.404	9	9.823	520.389	.000
TRT SAL	88.404	9	9.823	520.389	.000
Explained	1909.150	15	127.277	6742.879	.000
Residual	17.819	944	.019		
Total	1926.968	959	2.009		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 21 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน เพื่อหาค่าความแตกต่างของ
น้ำหนักเฉลี่ยปลากระพงขาว ที่เวลา 8

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Squares	Signif F	of F
Main Effects	6963.149	6	1160.525	63686.631	.000
TRT	6802.386	3	2267.462	124432.50	.000
SAL	160.763	3	53.588	2940.758	.000
2- way Interactions	116.798	9	12.978	712.176	.000
TRT SAL	116.798	9	12.978	712.176	.000
Explained	7079.948	15	471.997	25901.958	.000
Residual	17.202	944	.018		
Total	7097.150	959	7.401		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางสาวทัศนิมา พรหมดิเรก เกิดเมื่อวันที่ 10 พฤษภาคม 2516 จังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชา ชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา เมื่อปีการศึกษา 2536 จากทบวงมหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย