ภาคผนวก ก

Appendix table A.1 Effect of fermented soybean meal on villi height, μm (n=30, mean ± SE.)

Item	Treatment*				
	T1	T2	T3	T4	T5
Week 1					
Duodenum	373.23 ±9.15^{b}	284.94 ±6.46^{a}	385.34 ±6.94^{b}	560.46 ±1.80^{d}	512.51 ±1.99^{c}
Jejunum	375.17 ±8.26^{b}	203.2 ±6.37^{a}	379.94 ±7.30^{b}	396.69 ±9.15^{b}	396.37 ±9.27^{b}
Ileum	396.6 ±14.04	429.4 ±14.31	468.31 ±12.27	466.97 ±13.99	396.57 ±13.02
Average	382.67 ±10.48^{b}	305.85 ±9.04^{a}	411.2 ±8.83^{b}	474.7 ±8.31^{b}	435.85 ±8.15^{b}
Week 2					
Duodenum	458.4 ±4.96^{b}	332.2 ±8.26^{a}	433.89 ±5.12^{b}	560.46 ±6.80^{c}	487.64 ±6.86^{b}
Jejunum	379.37 ±7.21^{b}	258.79 ±9.16^{a}	432.9 ±11.14^{c}	481.93 ±12.77^{d}	357.41 ±7.50^{b}
Ileum	430.87 ±11.74^{b}	382.46 ±18.18^{a}	447.97 ±7.85^{b}	438.07 ±8.79^{b}	367.31 ±14.18^{a}
Average	422.88 ±7.97^{b}	324.48 ±11.86^{a}	438.25 ±8.03^{b}	493.5 ±9.45^{c}	404.12 ±9.51^{b}

$^{a, b, c \text{ and } d}$ mean within row with different superscripts are significantly different (P<0.05)

T1 = Control. T2 = Control which substituted with 10% SBM.

T3 = Control which substituted with 10% IFSBM. T4 = Control which substituted with 10% FSBM.

T5 = Control which substituted with 15% FSBM.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Appendix table A.1 Effect of fermented soybean meal on villi height, μm (continuous, n=30, mean ± SE.)

Item	Treatment*				
	T1	**T2**	**T3**	**T4**	**T5**
Week 3					
Duodenum	470.37 ±13.06^{b}	422.06 ±13.90^{a}	459.27 ±14.15^{b}	525.51 ±11.42^{c}	518.14 ±15.72^{c}
Jejunum	405.59 ±6.06^{a}	382.14 ±8.49^{a}	445.54 ±8.40^{b}	477.38 ±8.96^{b}	389.81 ±7.43^{a}
Ileum	408.75 ±8.77^{a}	450.39 ±9.23^{b}	446.85 ±6.53^{b}	444.35 ±6.91^{b}	479.35 ±6.36^{c}
Average	428.24 ±9.29^{a}	418.2 ±10.54^{a}	450.55 ±9.69^{b}	482.41 ±9.09^{b}	463.77 ±9.83^{b}
Week 4					
Duodenum	458.4 ±9.46^{a}	467.74 ±9.79^{a}	483.03 ±6.67^{a}	618.48 ±8.87^{b}	475.31 ±6.06^{a}
Jejunum	461.09 ±9.14^{b}	354.27 ±9.27^{a}	494.82 ±8.37^{c}	515.02 ±7.85^{c}	438.58 ±8.98^{b}
Ileum	466.42 ±7.45	429.95 ±13.15	484.61 ±5.55	476.28 ±6.05	449.7 ±8.77
Average	461.97 ±8.68^{b}	417.32 ±10.73^{a}	487.49 ±6.86^{b}	536.59 ±7.59^{c}	454.53 ±8.77^{b}

$^{a, b, c \text{ and } d}$ mean within row with different superscripts are significantly different (P<0.05)

T1 = Control. T2 = Control which substituted with 10% SBM.

T3 = Control which substituted with 10% IFSBM. T4 = Control which substituted with 10% FSBM.

T5 = Control which substituted with 15% FSBM.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Appendix table A.1 Effect of fermented soybean meal on villi height, μm (continuous, n=30, mean ± SE.)

Item	Treatment*				
	T1	T2	T3	T4	T5
Week 5					
Duodenum	494.27 ±6.12[a]	467.74 ±9.79[a]	492.98 ±6.12[a]	596.76 ±8.23[b]	493.66 ±6.19[a]
Jejunum	359.33 ±8.45[a]	354.27 ±9.27[a]	482.78 ±7.16[b]	517.57 ±6.50[b]	474.69 ±9.30[b]
Ileum	459.37 ±6.15	429.95 ±7.23	483.96 ±5.05	469.54 ±5.58	463.11 ±7.69
Average	437.66 ±6.90[a]	417.32 ±8.76[a]	486.57 ±6.11[b]	527.96 ±6.77[c]	477.15 ±7.72[b]
Week 6					
Duodenum	483.13 ±10.45[a]	467.74 ±9.79[a]	482.43 ±5.79[a]	566.27 ±8.53[b]	494.1 ±5.58[a]
Jejunum	308.59 ±6.12[a]	354.27 ±9.27[b]	490.17 ±6.55[b]	500.97 ±6.19[b]	469.1 ±7.98[b]
Ileum	453.23 ±5.62	429.95 ±9.23	489.2 ±4.74	455.57 ±5.39	445.31 ±7.09
Average	414.98 ±7.39[a]	417.32 ±9.43[a]	487.27 ±5.69[b]	507.6 ±6.70[b]	469.5 ±6.88[b]

[a, b, c and d] mean within row with different superscripts are significantly different (P<0.05)

T1 = Control.

T2 = Control which substituted with 10% SBM.

T3 = Control which substituted with 10% IFSBM.

T4 = Control which substituted with 10% FSBM.

T5 = Control which substituted with 15% FSBM.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Appendix table A.2 Effect of fermented soybean meal on villi surface area (mm^2) (n=30, mean ± SE.)

Item	Treatment*				
	1	2	3	4	5
Week 1					
Duodenum	0.0420 ±0.0035^{b}	0.0223 ±0.0030^{a}	0.0473 ±0.0038^{b}	0.0749 ±0.0042^{c}	0.0706 ±0.0034^{c}
Jejunum	0.0388 ±0.0034^{b}	0.0192 ±0.0019^{a}	0.0501 ±0.0029^{c}	0.0426 ±0.0025^{bc}	0.0445 ±0.0024^{bc}
Ileum	0.0394 ±0.0031^{a}	0.0341 ±0.0039^{a}	0.0534 ±0.0034^{b}	0.0653 ±0.0036^{c}	0.0446 ±0.0028^{a}
Average	0.0400 ±0.0033^{b}	0.0252 ±0.0029^{a}	0.0502 ±0.0033^{bc}	0.0609 ±0.0034^{c}	0.0532 ±0.0028^{bc}
Week 2					
Duodenum	0.0519 ±0.0030^{b}	0.0334 ±0.0037^{a}	0.0590 ±0.0039^{bc}	0.0749 ±0.0044^{d}	0.066 ±0.0034^{cd}
Jejunum	0.0490 ±0.0027^{a}	0.0465 ±0.0017^{a}	0.0613 ±0.0037^{b}	0.0571 ±0.0032^{b}	0.043 ±0.0026^{a}
Ileum	0.0507 ±0.0035^{b}	0.0373 ±0.0025^{a}	0.0510 ±0.0020^{b}	0.0524 ±0.0030^{b}	0.0444 ±0.0017^{ab}
Average	0.0505 ±0.0030^{b}	0.0390 ±0.0026^{a}	0.0571 ±0.0032^{c}	0.0614 ±0.0035^{c}	0.0511 ±0.0025^{b}

$^{a, b, c \text{ and } d}$ mean within row with different superscripts are significantly different (P<0.05)

T1 = Control. T2 = Control which substituted with 10% SBM.

T3 = Control which substituted with 10% IFSBM. T4 = Control which substituted with 10% FSBM.

T5 = Control which substituted with 15% FSBM.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Appendix table A.2 Effect of fermented soybean meal on villi surface area (continuous, n=30, mm^2, mean ± SE.)

Item	Treatment*				
	1	2	3	4	5
Week 3					
Duodenum	0.0601 ±0.0035^{b}	0.0217 ±0.0019^{a}	0.0568 ±0.0030^{b}	0.0730 ±0.0037^{c}	0.0756 ±0.0040^{c}
Jejunum	0.0471 ±0.0025^{b}	0.0259 ±0.0028^{a}	0.0600 ±0.0027^{bc}	0.0580 ±0.0028^{bc}	0.0552 ±0.0028^{bc}
Ileum	0.049 ±0.0028^{b}	0.0266 ±0.0026^{a}	0.0493 ±0.0016^{b}	0.0532 ±0.0027^{b}	0.0464 ±0.0016^{b}
Average	0.052 ±0.0029^{b}	0.0247 ±0.0024^{a}	0.0553 ±0.0024^{b}	0.0614 ±0.0030^{b}	0.059 ±0.0028^{b}
Week 4					
Duodenum	0.0519 ±0.0030^{b}	0.0204 ±0.0027^{a}	0.0655 ±0.0027^{b}	0.0717 ±0.0034^{b}	0.0648 ±0.0026^{b}
Jejunum	0.0528 ±0.0031^{b}	0.0212 ±0.0024^{a}	0.0597 ±0.0023^{b}	0.0630 ±0.0026^{b}	0.0562 ±0.0028^{b}
Ileum	0.0605 ±0.0024^{b}	0.0222 ±0.0017^{a}	0.0619 ±0.0025^{b}	0.0539 ±0.0022^{b}	0.0545 ±0.0022^{b}
Average	0.0550 ±0.0028^{b}	0.0212 ±0.0022^{a}	0.0623 ±0.0025^{b}	0.0628 ±0.0027^{b}	0.0585 ±0.0025^{b}

a, b, c and d mean within row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

T1 = Control. T2 = Control which substituted with 10% SBM.

T3 = Control which substituted with 10% IFSBM. T4 = Control which substituted with 10% FSBM.

T5 = Control which substituted with 15% FSBM.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Appendix table A.2 Effect of fermented soybean meal on villi surface area (continuous, n=30, mm^2, mean ± SE.)

Item	Treatment*				
	1	2	3	4	5
Week 5					
Duodenum	0.0569 ±0.0026^{b}	0.0204 ±0.0027^{a}	0.0628 ±0.0030^{b}	0.0689 ±0.0036^{b}	0.0695 ±0.0026^{b}
Jejunum	0.054 ±0.0033^{b}	0.0212 ±0.0024^{a}	0.0581 ±0.0020^{b}	0.0608 ±0.0028^{b}	0.0538 ±0.0032^{b}
Ileum	0.0599 ±0.0024^{b}	0.0222 ±0.0027^{a}	0.063 ±0.0028^{b}	0.0557 ±0.0020^{b}	0.0575 ±0.0023^{b}
Average	0.0569 ±0.0027^{b}	0.0212 ±0.0026^{a}	0.0613 ±0.0026^{b}	0.0618 ±0.0028^{b}	0.0602 ±0.0027^{b}
Week 6					
Duodenum	0.0569 ±0.0021^{b}	0.0204 ±0.0027^{a}	0.0654 ±0.0027^{b}	0.0666 ±0.0033^{b}	0.0706 ±0.0025^{b}
Jejunum	0.0591 ±0.0034^{b}	0.0212 ±0.0024^{a}	0.0717 ±0.0039^{b}	0.0626 ±0.0026^{b}	0.059 ±0.0033^{b}
Ileum	0.0596 ±0.0021^{b}	0.0222 ±0.0024^{a}	0.0638 ±0.0025^{b}	0.0573 ±0.0021^{b}	0.0574 ±0.0020^{b}
Average	0.0585 ±0.0025^{b}	0.0212 ±0.0025^{a}	0.0669 ±0.0030^{b}	0.0621 ±0.0026^{b}	0.0623 ±0.0026^{b}

$^{a, b, c \text{ and } d}$ mean within row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

*T1 = Control. T2 = Control which substituted with 10% SBM.

T3 = Control which substituted with 10% IFSBM. T4 = Control which substituted with 10% FSBM.

T5 = Control which substituted with 15% FSBM.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Appendix table A.3 Effect of soybean meal, imported fermented soybean meal and fermented soybean meal on performance, total average villi height and total average villi surface area. (week 1-6)

Item	Treatment*				
	T1	T2	T3	T4	T5
Total average villi height (μm)	424.73	383.42	460.22	503.79	450.82
	±8.45[b]	±10.06[a]	±7.53[c]	±7.98[d]	±8.47[c]
Total average villi surface	0.052	0.025	0.059	0.061	0.057
area (mm^2)	±0.0029[b]	±0.0025[a]	±0.0028[b]	±0.0030[b]	±0.0027[b]
Total weight gain (kg/pig)	17.14	16.17	17.89	16.64	17.20
	±0.40[ab]	±0.21[a]	±0.54[b]	±0.15[ab]	±0.13[ab]
Total feed intake (kg/pig)	30.96	29.16	30.88	29.41	30.58
	±0.93	±1.24	±0.93	±1.23	±1.12
Total average FCR	1.84	1.91	1.71	1.87	1.81
	±0.05[b]	±0.04[a]	±0.03[b]	±0.03[b]	±0.03[b]

[a, b, c and d] mean within column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

* T1 = Control.
T2 = Control which substituted with 10% SBM.
T3 = Control which substituted with 10% IFSBM.
T4 = Control which substituted with 10% FSBM.
T5 = Control which substituted with 15% FSBM.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Appendix table A.4 Total feed intake and total weight gain of experiment. (mean ± SE.)

Treatment*	Total feed intake (kg/pig)	Total gain (kg/pig)
T1	30.96 ± 0.93	17.14 ± 0.40[ab]
T2	29.16 ± 1.24	16.17 ± 0.21[a]
T3	30.88 ± 0.93	17.89 ± 0.54[b]
T4	29.41 ± 1.23	16.64 ± 0.15[ab]
T5	30.58 ± 1.12	17.20 ± 0.13[ab]

[a and b] mean within column with different superscripts are significantly different (P<0.05)

*T1 = Control. T2 = Control which substituted with 10% SBM.

T3 = Control which substituted with 10% IFSBM. T4 = Control which substituted with 10% FSBM.

T5 = Control which substituted with 15% FSBM.

Appendix table A.5 Effect of soybean meal, imported fermented soybean meal and fermented soybean meal on average daily feed intake. (mean ± S.E., g/pig/day)

Treatment*	Week1	Week2	Week3	Week4	Week5	Week6
T1	204.92	486.65	699.77	876.58	1044.86	1110.54
	±17.59	±47.34	±18.85	±18.75	±45.39	±41.15[b]
T2	188.81	592.49	746.01	808.21	938.69	1005.38
	±17.32	±42.27	±20.99	±25.41	±40.38	±41.94[a]
T3	211.60	500.34	709.02	888.55	1014.33	1087.48
	±16.89	±34.95	±17.77	±26.33	±37.57	±38.55[b]
T4	175.47	481.68	698.96	846.58	997.87	1033.57
	±11.10	±29.63	±22.59	±25.77	±38.41	±27.62[ab]
T5	202.88	477.83	700.56	855.66	1006.85	1032.06
	±22.06	±36.54	±19.40	±23.00	±34.82	±49.72[ab]

[a and b] mean within column with different superscripts are significantly different (P<0.05)

*T1 = Control. T2 = Control which substituted with 10% SBM.

T3 = Control which substituted with 10% IFSBM. T4 = Control which substituted with 10% FSBM.

T5 = Control which substituted with 15% FSBM.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Appendix table A.6 Effect of soybean meal, imported fermented soybean meal and fermented soybean meal on average daily gain. (g/pigs/day., mean ± SE.)

Treatment*	Week1	Week2	Week3	Week4	Week5	Week6
T1	130	290	434	491	566	544
	±13.91	±8.71^{ab}	±15.42^{a}	±10.61	±28.27	±31.12
T2	110	275	440	513	503	485
	±12.97	±16.54^{a}	±10.35^{ab}	±7.55	±13.07	±30.91
T3	150	325	473	531	516	514
	±14.99	±8.59^{b}	±11.50^{b}	±15.71	±15.98	±34.05
T4	120	288	468	492	510	462
	±11.43	±8.13^{ab}	±17.71^{ab}	±14.87	±24.72	±20.73
T5	151	318	443	487	516	540
	±16.72	±13.43^{ab}	±13.92^{ab}	±13.23	±22.54	±30.91

$^{a \text{ and } b}$ mean within column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

*T1 = Control. T2 = Control which substituted with 10% SBM.

T3 = Control which substituted with 10% IFSBM. T4 = Control which substituted with 10% FSBM.

T5 = Control which substituted with 15% FSBM.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Appendix table A.7 Effect of soybean meal, imported fermented soybean meal and fermented soybean meal on feed conversion ratio. (mean ± SE.)

Treatment*	Week1	Week2	Week3	Week4	Week5	Week6	Average
T1	1.72	1.66	1.82	1.79	1.86	2.07	1.84
	±0.26	±0.04	±0.09[b]	±0.05	±0.11	±0.19	±0.04[b]
T2	1.72	1.84	1.79	1.72	1.79	2.07	1.91
	±0.19	±0.06	±0.05[a]	±0.04	±0.10	±0.20	±0.08[a]
T3	1.56	1.54	1.50	1.68	1.82	2.20	1.71
	±0.16	±0.05	±0.05[b]	±0.05	±0.07	±0.14	±0.07[b]
T4	1.56	1.66	1.71	1.81	2.02	2.32	1.87
	±0.25	±0.05	±0.07[b]	±0.06	±0.17	±0.26	±0.06[b]
T5	1.56	1.58	1.68	1.76	2.02	2.34	1.81
	±0.24	±0.07	±0.05[b]	±0.06	±0.16	±0.20	±0.07[b]

[a and b] mean within column with different superscripts are significantly different (P<0.05)

*T1 = Control. T2 = Control which substituted with 10% SBM.

T3 = Control which substituted with 10% IFSBM. T4 = Control which substituted with 10% FSBM.

T5 = Control which substituted with 15% FSBM.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

A. การวิเคราะห์หาปริมาณวัตถุแห้ง (dry matter), AOAC (1998) อ้างโดย พันทิพา (2546)

หลักการ

เมื่อนำตัวอย่างมาทำการอบที่อุณหภูมิ 100-105°C จนน้ำหนักคงที่ น้ำหนักที่หายไป คือ ความชื้น

วิธีการทำ

1. นำถ้วยชั่งน้ำหนัก (weighing bottle) ที่ล้างทำความสะอาดแล้วไปอบในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 100-105°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด นำไปไว้ในโถดูดความชื้น (desiccator) ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_1)

2. ชั่งตัวอย่างอาหาร 3 กรัม (W_3) ใส่ในถ้วยชั่งน้ำหนัก

3. นำไปอบที่อุณหภูมิ 100-105°C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง โดยเปิดฝาถ้วย เมื่อครบกำหนด ปิดฝาถ้วยแล้วนำไปไว้ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_2)

วิธีคำนวณ

$$\text{Dry matter (\%)} = \left(\frac{W_2 - W_1}{W_3}\right) \times 100$$

B. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยรวม (crude protein), AOAC (1998) อ้างโดย พันทิพา (2546)

หลักการ

เนื่องจากโปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ดังนั้น การวิเคราะห์หาโปรตีนในอาหารสัตว์จึงทำการวิเคราะห์โดยวัดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหาร แล้วจึงเปลี่ยนปริมาณไนโตรเจนที่วัดได้ให้เป็นโปรตีน การวิเคราะห์ด้วยวิธีเจล์ดาห์ล (kjeldahl method) ตัวอย่างจะถูกย่อยด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 98% (sulfuric acid) ที่อุณหภูมิสูงเพื่อสลายไนโตรเจนทั้งหมดออกมา ซึ่งจะได้เป็นแอมโมเนียมซัลเฟต (ammonium sulfate) เติมการละลายด่างเข้มข้นลงไป แล้วนำไปกลั่น จะได้แอมโมเนีย (ammonia) ซึ่งจะถูกจับด้วยกรดบอริค

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(boric acid) หลังจากนั้นนำไปไทเทรตกับสารละลายกรดมาตรฐาน จะทำให้ทราบปริมาณของไนโตรเจน นำปริมาณไนโตรเจนคูณกับ 6.25 จะได้เป็นโปรตีนโดยรวม

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น 98%
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 38%
3. กรดบอริค 4%
4. กรดไฮโดรคลอริคความเข้มข้น 0.1N (hydrochloric acid)
5. ทาชิโร อินดิเคเตอร์ (Tashiro indicator)
6. ซิลีเนียมมิคซ์เชอร์ (selenium mixture)

วิธีการทำ

1. ชั่งตัวอย่างน้ำหนัก 1 กรัม ใส่ในหลอดย่อย (digestion tube) ใส่ซีลีเนียมมิคซ์เชอร์ 1 เม็ด (ใช้ซีลีเนียมมิคซ์เชอร์ 1 ช้อนตักสาร นำไปอัดเม็ด) เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น 25 มล. ทั้งนี้จะต้องทำแบลงค์ (การไม่ใส่ตัวอย่าง) ควบคู่ไปด้วย

2. นำไปตั้งบนเตาของเครื่องย่อย ปิดฝาหลอดย่อย และต่อเข้ากับเครื่องดูดไอกรด เปิดเครื่องย่อย และเครื่องดูดไอกรด ย่อยให้ได้สารละลายใส ใช้เวลาประมาณ 2-3 ชม.

3. เมื่อครบเวลาที่กำหนดหรือได้สารละลายใสแล้ว ปิดเครื่องย่อย และเครื่องดูดไอกรด ทิ้งไว้ให้เย็น

ขั้นตอนการกลั่น

1. เทสารละลายใสที่ได้จากขั้นตอนการย่อย ข้อ3 ลงในหลอดเจล์ดาห์ล (kjekdahl flask) ใช้น้ำกลั่นล้างสารละลายที่เหลือในหลอดย่อย แล้วเทลงในหลอดเจล์ดาห์ล เติมน้ำกลั่นลงไปอีก 200 มล. และหยดทาชิโร อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด

2. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 38 % ปริมาณ 70 มล. และใส่หินพิวมิซ (pumice stone) 2-3 เม็ด

3. นำไปต่อเข้ากับเครื่องกลั่น

4. ตวงกรดบอริค 4% ปริมาณ 40 มล. ใส่ในขวดรูปชมพู (erlenmeyer flask) เติม ทาชิโร อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด

5. นำปลายคอนเดนเซอร์ (condenser) จุ่มลงในกรดบอริค

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6. เปิดเครื่องกลั่น กลั่นจนได้สารละลายประมาณ 150 มล. หรือกลั่นจนแอมโมเนียหมด ตรวจสอบได้โดยใช้กระดาษลิตมัสสีแดงชุบน้ำ นำไปอังที่ปลายคอนเดนเซอร์ ถ้ากระดาษลิตมัสไม่เปลี่ยนสี แสดงว่าแอมโมเนียหมดแล้ว หยุดกลั่นได้

ขั้นตอนการไทเทรต

1. นำสารละลายของตัวอย่างและของBlankที่กลั่นได้จากข้อ 6. ไปไทเทรตกับกรดไฮโดรคลอริคความเข้มข้น 0.1 N โดยไทเทรตจนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีชมพูจดบันทึกปริมาณกรดที่ใช้ไทเทรต

2. นำปริมาณกรดที่ใช้ไทเทรตไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน ดังแสดงในสูตร และนำเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน ดังแสดงในสูตร

การคำนวณ

$$N\ (\%) = \left(\frac{ml\ HCl(s) - ml\ HCl(b) \times N\ HCl \times 0.014}{W_s} \right) \times 100$$

$$CP\ (\%) = N\ (\%) \times 6.25$$

N = ปริมาณไนโตรเจนคิดเป็นเปอร์เซ็นต์

HCl(s) = ปริมาณกรดไฮโดรคลอริคที่ใช้ไทเทรตสารละลายของตัวอย่าง

HCl(b) = ปริมาณกรดไฮโดรคลอริคที่ใช้ไทเทรตสารละลายของแบลงค์

N HCl = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริคที่ใช้สำหรับไทเทรต

W_s = น้ำหนักตัวอย่างมีหน่วยเป็นกรัม

CP = โปรตีนรวมคิดเป็นเปอร์เซ็นต์

C. การวิเคราะห์หาปริมาณไขมันโดยรวม (ether extract) โดยวิธี soxhlet, AOAC (1998) อ้างโดย พันทิพา (2546)

หลักการ

ปริมาณไขมันที่มีอยู่ในอาหารสามารถสกัดออกมาได้โดยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ เช่น อีเทอร์ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เบนซิน ไดคลอโรมีเทน เป็นต้น ปัจจุบันนิยมใช้ไดคลอโร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มีเทน เพราะว่าไม่ติดไฟ ปริมาณไขมันที่สกัดได้จะเป็นปริมาณไขมันโดยรวม เพราะมีส่วนของไวตามินที่ละลายได้ในไขมัน และสารสี รวมอยู่ด้วย

สารเคมี

ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane)

วิธีการทำ

1. ใส่หินพัมมิช 2-3 เม็ด ลงในขวดก้นกลม (round bottom flask) นำไปอบที่อุณหภูมิ 100°C จนน้ำหนักคงที่ หรืออบเป็นเวลา 1 ชม

2. นำไปใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งน้ำหนัก (W_1)

3. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 3 กรัม (W_s) แล้วนำไปห่อด้วยกระดาษกรองหรือกระดาษที่ปราศจากไขมัน เสร็จแล้วนำไปใส่ในทิมเบิล (thimble)

4. นำทิมเบิลใส่ในซอคท์เล็ท (soxhlet)

5.นำซอคท์เลทต่อเข้ากับปลายคอนเดนเซอร์ (condenser) เสร็จแล้วนำขวดก้นกลมมาต่อเข้ากับปลายของซอคท์เล็ท โดยให้ขวดตั้งอยู่บนเตาให้ความร้อน

6.เติมไดคลอโรมีเทนลงในขวดก้นกลมจำนวน 2 ไซฟอน (siphon) โดยผ่านทางปลายคอนเดนเซอร์

7.เปิดเครื่องทำความเย็นของน้ำและเตาให้ความร้อน

8.ปรับตั้งความร้อนของเตา โดยให้จำนวนหยดของสารละลายที่กลั่นได้จากปลายคอนเดนเซอร์เท่ากับ 5-6 หยดต่อวินาที ใช้เวลากลั่นประมาณ 16 ชั่วโมง

9.เมื่อครบกำหนด นำทิมเบิลออกจากซอคท์เล็ท กลั่นต่อเพื่อเก็บไดคลอโรมีเทนไว้ใช้ต่อไป โดยเมื่อกลั่นได้สารละลายปริมาณ ½ ของซอคท์เล็ท เทสารละลายที่กลั่นได้ออก กลั่นต่อจนเหลือไดคลอโรมีเทนในก้นขวดเพียงเล็กน้อย (อย่าให้แห้ง) ปิดเครื่องทำความเย็นและเตาให้ความร้อน

10.นำขวดก้นกลมไปอบที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

11.นำขวดก้นกลมไปใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_2)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การคำนวณ

$$\text{Ether extract (\%)} = \left(\frac{W_2 - W_1}{W_s}\right) \times 100$$

D. การวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใยโดยรวม (crude fiber), AOAC.(1998) อ้างโดย พันทิพา (2546)

หลักการ

ต้มตัวอย่างอาหารด้วยกรดและด่างเจือจาง เสร็จแล้วกรองและนำส่วนที่กรองได้ไปเผาที่อุณหภูมิ 600°C ส่วนที่หายไปหลังจากการเผา คือ เยื่อใยโดยรวม

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก 3.125%
2. โซเดียมไฮดรอไซด์ 3.125%
3. อะซีโตน (acetone)
4. ไดอะตอมมาเชียส เอิร์ท (diatomaceous earth)

วิธีการทำ

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 3 กรัม (W_s) ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 มล.
2. เติมกรดซัลฟูริก 3.125% ปริมาณ 200 มล. นำไปต้มแบบรีฟลัค (reflux)ต้มเป็นเวลา 10 นาที โดยเริ่มจับเวลาเมื่อสารละลายเดือด
3. นำมากรองด้วยบูชเนอร์ฟันเนล (buchner funnel) ซึ่งต่อกับขวดซัคชั่น (suction flask) โดยใช้กระดาษกรองและไดอะตอมมาเชียส เอิร์ท 1 ช้อนตักสาร ลงบนกระดาษกรอง เทน้ำกลั่นที่ต้มจนเดือดลงในบูชเนอร์ฟันเนล แล้วเปิดเครื่องซัคชั่น
4. นำสารละลายที่ต้มจนเดือดเทลงในบูชเนอร์ฟันเนล ล้างบีกเกอร์โดยใช้น้ำกลั่นที่ต้มเดือดจำนวน 500 มล. กรองจนได้ตะกอนที่แห้ง
5. ถ่ายตะกอนทั้งหมดในบีกเกอร์ใบเดิม เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3.125% ปริมาณ 200 มล. นำไปต้มแบบรีฟลัค (reflux) ให้เดือดเป็นเวลา 10 นาที โดยเริ่มจับเวลาเมื่อสารละลายเดือด
6. ทำตามขั้นตอนในข้อ 3 และ 4

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7. ล้างตะกอนที่กรองได้ด้วยอะซีโตน เสร็จแล้วถ่ายตะกอนทั้งหมดใส่ถ้วยกระเบื้อง นำไปอบที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

8. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบมาใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_1)

9. นำถ้วยไปเผาบนแผ่นให้ความร้อนในตู้ดูดควันจนหมดควัน แล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 600°C ในเตาเผา เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

10. รอให้อุณหภูมิเตาเผาลดลงเหลือประมาณ 200°C จึงนำถ้วยออกมาใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_2)

การคำนวณ

$$\text{Crude fiber (\%)} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_s}\right) x\ 100$$

E. การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (ash), AOAC (1998) อ้างโดย พันทิพา (2546)

หลักการ

พวกอนินทรีย์สารที่เหลือหลังจากการเผาตัวอย่างอาหาร คือ เถ้า ส่วนพวกอินทรีย์สารจะถูกเผาไหม้หมด ดังนั้นเมื่อนำตัวอย่างไปเผาที่อุณหภูมิ 600°C ส่วนที่เหลือหลังจากการเผาจะเป็นปริมาณเถ้าทั้งหมด

วิธีการทำ

1. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible) เปล่าที่ล้างทำความสะอาดแล้วไปอบที่อุณหภูมิ 100°C หรือเผาที่อุณหภูมิ 600° C ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักถ้วยเปล่า (W_1)

2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างอาหาร 2 กรัม (W_s) ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ

3. นำไปเผาบนแผ่นให้ความร้อน (hot plate) หรือ ตะเกียงบุนเซน ในตู้ดูดควันจนหมดควัน

4. นำไปเผาต่อในเตาเผา (muffle furnace) ที่อุณหภูมิ 600°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. ปิดไฟ รอให้อุณหภูมิเตาเผาลดลงเหลือประมาณ 200°C จึงนำถ้วยออกมา และทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_2)

วิธีคำนวณ

$$\text{Ash (\%)} = \left(\frac{W_2 - W_1}{W_s}\right) \times 100$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved