2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุ

ตัวอย่าง

1. น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็ง ที่ผ่านการบำบัดด้วย activated sludge process ได้รับความเอื้อเฟื้อจากบริษัทห้องเย็นโชติวัฒน์หาดใหญ่ จำกัด (มหาชน) จังหวัดสงขลา

2. เปลือกกุ้งกุลาดำได้ความเอื้อเฟื้อจากบริษัทห้องเย็นโชติวัฒน์หาดใหญ่ จำกัด (มหาชน) จังหวัดสงขลา

3. ไก่พันธุ์ฮับบาร์ดเพศผู้ อายุประมาณ 8 – 9 เดือน จำนวน 24 ตัว ได้รับความเอื้อเฟื้อจากภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

4. กรงตับสำหรับขังไก่พันธุ์ไข่เพศผู้ ได้รับความเอื้อเฟื้อจากภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต / เกรด
Acetic acid	Merck / AR
Acetic anhydride (free HCl)	J.T.Baker / AR
Acetonitrile	J.T.Baker / HPLC
Amino acid standard (18 mixed)	Pierce
DL-α-Amino-n-butyric acid	Sigma
Ammonium metavanadate	Unilab / AR
Ammonium molybdate	Merck / AR
Arachidic acid	Sigma
Arachidonic acid	Sigma
Behenic acid	Sigma
Benzoic acid	Merck / AR

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต / เกรด
Boron trifluoride	Sigma
Bovine serum albumin	Sigma
Buffer reagent for calcium determination	Clinag
Chloroform	J.T.Baker / AR
Cholesterol	Sigma
Cholesteryl oleate	Sigma
Chromotropic acid (disodium salt)	BDH / AR
Color reagent for calcium determination	Clinag
Copper sulphate	Fluka / AR
Diatomaceous earth	Merck
Diethyl ether	Lab scan / AR
1,3-Dipalmitin	Sigma
1,2-Dipalmitoyl-sn-glycerol	Sigma
Disodium phosphate	Carlo erba / AR
Erucic acid	Sigma
Ethanol	Merck / AR
Ethylenediamine tetraacetic acid	Fluka / AR
Heneicosanic acid	Sigma
Heptadecanoic acid	Sigma
Hexane	J.T. Baker / HPLC
Hydrochloric acid	Riedel-de Haën / AR
Lignoceric acid	Sigma
Lithium sulfate monohydrate	Fluka / AR
Methanol	J.T. Baker / HPLC
	Lab scan / AR
1-Monooleyl-rac-glycerol	Sigma

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต / เกรด
Monostearin	Sigma
Myristic acid	Sigma
Nitric acid	Lab scan / AR
Palmitic acid (sodium salt)	Sigma
Perchloric acid	Merck / AR
Petrolium ether	Merk / AR
Phenylisothiocyanate	Pierce
Phospholic acid	Merck / AR
Potasium hydroxide	BDH / AR
Potasium sodium tartrate tetrahydrate	Merck / AR
Silicic acid	Sigma / AR
Sodium acetate trihydrate	Carlo erba / AR
Sodium chloride	Carlo erba / AR
Sodium hydroxide	BDH / AR
Sodium tungstate	Mallinckrodt / AR
Stearic acid	Sigma
Sulfuric acid	Merck / AR
Trichosanoic acid	Sigma
Tridecanoic acid	Sigma
Triethylamine	Aldrich
Triolein	Sigma
Tristearin	Sigma
Undecanoic acid	Sigma
Uric acid	Sigma

อุปกรณ์

อุปกรณ์	บริษัทผู้ผลิต
ตู้อบลมร้อน	Binder
เครื่องวัดพีเอช	Accumet
เครื่องดูดสูญญากาศ	Water
เครื่องชั่งที่ชั่งได้ละเอียดถึง 0.1 mg	Mettler Toledo
เตาเผาอุณหภูมิสูง	Carbolite
Atomic absorbtion spectrophotometer	GBC 901
Bomb calorimeter	Gallenkamp
Gas-liquid chromatography	Hewlett packard
High performance liquid chromatography	Hewlett Packard
Homogenizer	Kinematica
Ligh microscope CH-2	Olympus
Rotary evaporator	Büchi
Ultrasonic cleanser	Branson
Scanning electron microscope	Jeol, Japan
Spectrophotometer	Spectronic

วิธีการ

2.1 การเตรียมไคโตซาน

ไคโตซานที่ใช้ในการทดลองนี้เตรียมตามวิธีที่แนะนำโดย Sornprasit (1997) ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลักคือ การเตรียมเปลือกกุ้งกุลาดำ การเตรียมไคติน และการเตรียมไคโตซาน

2.1.1 การเตรียมเปลือกกุ้งกุลาดำ

เก็บตัวอย่างเปลือกกุ้งกุลาดำสดจากบริษัทห้องเย็นโชติวัฒน์หาดใหญ่ จำกัด (มหาชน) ล้างให้สะอาดด้วยน้ำประปา อบให้แห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80°ซ บดด้วยเครื่องบด ให้ผ่านตะแกรงขนาด 0.75 มม. ได้

2.1.2 การเตรียมไคติน

นำเปลือกกุ้งบดที่เตรียมไว้มากำจัดแร่ธาตุ (demineralization) ด้วย 1 M HCl ใช้อัตราส่วนเปลือกกุ้งบดต่อสารละลายกรด 15:190 (น้ำหนัก:ปริมาตร) กวนด้วยเครื่องกวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1.5 ชม. นำมากรองสารละลายกรดออก ล้างด้วยน้ำที่ปราศจากอิออน (deionized water) หลายครั้ง แล้วปรับพีเอช (pH) ให้เป็นกลางด้วย 5 M NaOH นำเปลือกกุ้งที่กำจัดแร่ธาตุออกแล้วนี้มากำจัดโปรตีน (deproteinization) ด้วย 1 M NaOH ใช้อัตราส่วนตัวอย่างต่อสารละลายด่าง 1:13 (น้ำหนัก:ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 50 °ซ เป็นเวลา 5 ชม. นำมากรองสารละลายด่างออก ล้างด้วยน้ำที่ปราศจากอิออนหลาย ๆ ครั้งและปรับพีเอชให้เป็นกลางด้วย 5M HCl กรองเก็บไคตินที่ได้ อบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60°ซ จนแห้งสนิท ชั่งน้ำหนักไคตินที่ได้เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ผลผลิต

2.1.3 การเตรียมไคโตซาน

นำไคตินที่เตรียมได้จากข้อ 2.1.2 มากำจัดหมู่อะซิติล ด้วย 50% NaOH อัตราส่วนไคตินต่อสารละลายด่าง 1:15 (น้ำหนัก:ปริมาตร) โดย reflux ที่อุณหภูมิ 126 °ซ ภายใต้บรรยากาศของก๊าซไนโตรเจนเป็นเวลา 8 ชม. กรองและล้างหลาย ๆ ครั้งด้วยน้ำที่ปราศจากอิออน และปรับพีเอชให้เป็นกลางด้วย 5 M HCl กรองแยกเอาไคโตซานออกมาล้างด้วยเมธิลอัลกอฮอล์ ตามด้วยอะซิโตน แล้วนำไคโตซานที่ได้ไปทำให้แห้งสนิทในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ ชั่งน้ำหนักไคโตซานที่ได้

2.2 การเตรียมตัวอย่างตะกอนจากการบำบัดน้ำเสีย

ตัวอย่างตะกอนเตรียมจากน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดขั้นสุดท้ายก่อนแยกตะกอนออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบ activated sludge จากบริษัทห้องเย็นโชติวัฒน์หาดใหญ่จำกัด (มหาชน) โดยนำตัวอย่างน้ำเสียมาเติมสารละลายไคโตซานเข้มข้น 0.2% ใน 1% กรดอะซิติก ใช้อัตราส่วนสารละลายไคโตซาน 1 มล. ต่อน้ำเสีย 100 มล. (ความเข้มข้นสุดท้าย 20 ppm) กรองตะกอนที่ได้ด้วยเครื่องแยกตะกอน (filter press) อบตะกอนในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80 °ซ นำตะกอนแห้งมาบดให้ละเอียด ผ่านตะแกรงขนาด 0.75 มม. ชั่งน้ำหนักแล้วเก็บในภาชนะปิดที่อุณหภูมิต่ำ (-10 °ซ) เพื่อป้องกันการเสื่อมคุณภาพจากกิจกรรมของเชื้อราและแบคทีเรียระหว่างรอการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

2.3 การศึกษาลักษณะตะกอนซึ่งเกิดจากการรวมตัวกันของอนุภาคใน activated sludge ด้วยไคโตซาน โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา (Light microscope) และกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope : SEM)

ใช้ตัวอย่างน้ำเสียเช่นเดียวกับข้อ 2.2 มาตกตะกอนโดยเติมสารละลาย 0.2% ไคโตซานใน 1% กรดอะซิติก ด้วยอัตรา 1 มล. ต่อน้ำเสีย 100 มล. ตั้งให้ตกตะกอน แล้วดูดตะกอนมา ศึกษาลักษณะการรวมตัวระหว่างไคโตซานกับอนุภาคใน activated sludge ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาโดยเกลี่ยตะกอนลงบนสไลด์ ตั้งให้แห้ง ย้อมด้วยสีแกรม (Gram stain) แล้วนำมาสังเกตลักษณะตะกอนด้วยกล้องจุลทรรศน์ (light microscope)

สำหรับการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดดำเนินการโดยนำตะกอนมาเกลี่ยบนสไลด์ ทำให้แห้งด้วย freeze drier ฉาบตัวอย่างด้วยทอง แล้วจึงนำไปสังเกตลักษณะตะกอนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด

2.4 การวิเคราะห์ส่วนประกอบทางโภชนาการของตะกอนโดยประมาณ (proximate analysis)

นำตัวอย่างตะกอนแห้งมาทำการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางโภชนาการโดยประมาณ (proximate analysis) คือ ปริมาณความชื้น เถ้า ไนโตรเจน ไขมันรวม (crude lipid) สารเยื่อใยรวม (crude fiber) แร่ธาตุหลัก 2 ชนิดคือแคลเซียมและฟอสฟอรัส

2.4.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ปริมาณความชื้นดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีของ A.O.A.C (1984) โดยชั่งตัวอย่างตะกอนให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 3 กรัม ใส่ในถ้วยเผาที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100-102 °ซ จนมีน้ำหนักคงที่ วางให้เย็นใน descicator ชั่งน้ำหนักทันทีที่เย็นลงถึงอุณหภูมิห้อง คำนวณปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักของตัวอย่างหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบ}}$$

2.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

ปริมาณเถ้าดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐานของ A.O.A.C (1984) โดยชั่งตัวอย่างตะกอนให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 3 กรัม ใส่ในถ้วยเผาซึ่งผ่านการเผาที่อุณหภูมิ 850 °ซ (เป็นเวลา 3 ชม.) และนำมาชั่งให้ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปเผาในเตาเผาอุณหภูมิสูง ที่อุณหภูมิ 850 °ซ เป็นเวลา 8 ชั่วโมง วางให้เย็นใน descicator ชั่งน้ำหนักทันทีที่เย็นถึงอุณหภูมิห้อง คำนวณปริมาณเถ้าจากสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักของตัวอย่างก่อนเผา} - \text{น้ำหนักของตัวอย่างหลังเผา}) \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างก่อนเผา}}$$

2.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน

ปริมาณไนโตรเจนดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐานของ Kjeldahl (A.O.A.C., 1995) โดยชั่งตัวอย่างตะกอนให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.5 กรัม และสารเร่งปฏิกิริยา 2.2 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อยไนโตรเจน เติมสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น (96.1%) 20 มล. ทำการย่อยด้วยความร้อนบนเตาย่อยจนได้สารละลายใส ตั้งให้เย็นแล้วปรับปริมาตรสารละลายเป็น 50 มล. ด้วยน้ำกลั่น แบ่งมา 10 มล. ทำปฏิกิริยากับ 45% NaOH (น้ำหนัก:ปริมาตร) ปริมาตร 10 มล. ในหอกลั่น แก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้นจะถูกจับไว้โดย 0.2 M HCl ปริมาตร 10 มล. กลั่นจนได้ปริมาณ สารละลายในขวดจับแอมโมเนียม-อิออนประมาณ 40-50 มล. นำสารละลายที่ได้มาติเตรทด้วย 0.1 M NaOH โดยใช้เมธิลเรดเป็นอินดิเคเตอร์ คำนวณไนโตรเจนจากสูตร

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} = \frac{(A - (A - B)) \times 5 \times 14.007 \times 100}{F}$$

A = ปริมาณของ HCl (โมล)

B = ปริมาณของ NaOH (โมล)

F = น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)

2.4.4 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันรวม (total lipid)

ปริมาณไขมันรวมดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีของ Folch *et al.* (1957) โดยชั่งตัวอย่างตะกอนให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 1 กรัม ใส่หลอดทดลอง เติมสารละลายคลอโรฟอร์ม:เมธานอล (2:1) 20 มล. ปิดปากหลอดด้วยอลูมิเนียมฟอยด์ปิดทับด้านนอกด้วยพาราฟิล์ม ผสมให้เข้ากันโดยเครื่องอุลตราโซนิค เป็นเวลา 10 นาที แล้วเก็บในตู้เย็น (0-4°ซ) เป็นเวลา 24 ชม. กรองสารละลายที่ได้จากการสกัด ล้างตะกอนที่เหลือด้วยสารละลายคลอโรฟอร์ม:เมธานอล:น้ำ (84:16:1) เก็บสารละลายที่ได้รวมกัน วัดปริมาตร แล้วเติม 0.9% NaCl ปริมาตร 0.2 เท่าของสารละลายที่เก็บได้ ผสมให้เข้ากันโดยการเขย่าแรง ๆ แล้วเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 0-4°ซ เป็นเวลา 24 ชม. นำมาดูดชั้นของสารละลายคลอโรฟอร์มที่มีไขมันละลายอยู่ใส่ในขวดรูปแพร์ ระเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยความดันต่ำ ละลายไขมันกลับใส่ขวดขนาดเล็ก (vial) ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว ด้วยสารละลายคลอโรฟอร์ม:เมธานอล (2:1) ระเหยตัวอย่างไขมันที่อุณหภูมิ 40°ซ ภายใต้บรรยากาศของก๊าซไนโตรเจนจนแห้ง ระเหยตัวทำละลายที่อาจตกค้างอยู่ด้วยเครื่องดูดสูญญากาศ เป็นเวลา 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนักทันที บันทึกน้ำหนักไขมันที่ได้ ละลายไขมันกลับด้วยคลอโรฟอร์ม เก็บตัวอย่างไขมันภายใต้บรรยากาศก๊าซไนโตรเจน โดยการผ่านก๊าซไนโตรเจนก่อนปิดฝาให้สนิทเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิต่ำ (-10°ซ) เพื่อการวิเคราะห์รายละเอียดเกี่ยวกับไขมันต่อไปคำนวณปริมาณไขมันรวมดังนี้

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันที่สกัดได้} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย}}$$

2.4.5 การวิเคราะห์ปริมาณสารเยื่อใย (crude fiber)

ปริมาณสารเยื่อใยดำเนินการวิเคราะห์โดยวิธีดัดแปลงจาก A.O.A.C. (1990) โดยชั่งตัวอย่างตะกอนให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่บิกเกอร์สำหรับย่อยสารเยื่อใยขนาด 600 มล. เติม 1.25% H_2SO_4 (น้ำหนัก:ปริมาตร) ปริมาตร 200 มล. ต้มบนเตา

ย่อยสารเยื่อใยจนเดือดเป็นเวลา 30 นาที ตั้งให้เย็นแล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่แรงเหวี่ยง 7500 G. เป็นเวลา 30 นาที เก็บตะกอนแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 200 มล. หมุนเหวี่ยงแยกตะกอนอีกครั้งด้วยความเร็ว 7500 G. เป็นเวลา 30 นาที ถ่ายตะกอนลงบิกเกอร์สำหรับย่อยสารเยื่อใย เติม 1.25% NaOH (น้ำหนัก : ปริมาตร) ปริมาตร 200 มล. ต้มบนเตาย่อยสาร-เยื่อใยจนเดือดเป็นเวลา 30 นาที ตั้งให้เย็นแล้วนำมาปั่นแยกตะกอนที่ความเร็ว 7500 G. เป็นเวลา 30 นาที ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 200 มล. ปั่นแยกเพื่อเก็บตะกอนอีกครั้งที่ความเร็ว 7500 G. เป็นเวลา 30 นาที ถ่ายตะกอนที่ได้ลงในถ้วยเผาที่สะอาดและทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ตั้งให้เย็นในเดสซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักทันทีที่อุณหภูมิลดลงถึงอุณหภูมิห้อง นำตะกอนที่ผ่านการ อบแห้งแล้วนั้นไปเผาในเตาเผาอุณหภูมิสูง ที่อุณหภูมิ 600°ซ เป็นเวลา 30 นาที ตั้งให้เย็นในเดสซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักทันทีที่เย็นลงถึงอุณหภูมิห้อง

คำนวณปริมาณสารเยื่อใยดังนี้

$$\text{ปริมาณสารเยื่อใย (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักหลังอบ} - \text{น้ำหนักหลังเผา}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

2.4.6 การวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุหลัก (แคลเซียมและฟอสฟอรัส)

2.4.6.1 วิธีย่อยตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัส

การย่อยตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัส ดำเนินการตามวิธีที่แนะนำโดยวิธีดัดแปลงจาก A.O.A.C. (1990) โดยชั่งตัวอย่างตะกอนให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.5 กรัม ใส่ในหลอดย่อยตัวอย่าง เติมสารละลายกรดสำหรับย่อยตัวอย่าง (ประกอบด้วย กรดไนตริกเข้มข้น 1,250 มล. กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 250 มล. amonium metavanadate 60 มล. ละลายในน้ำอุ่นที่ปราศจากอิออน 10 มล.) ปริมาตร 15 มล. ทำการย่อยบนเตาย่อยที่อุณหภูมิ 80°ซ จนไม่มีควันสีน้ำตาล แล้วเพิ่มความร้อนเป็น 190°ซ จนหมดควันสีเหลืองแล้วให้ความร้อนต่ออีก 2 ชม. จนได้สารละลายใส ตั้งให้เย็นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากอิออนให้เป็น 50 มล. เก็บตัวอย่างไว้สำหรับตรวจหาแคลเซียม และฟอสฟอรัส

2.4.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมโดยใช้น้ำยาสำเร็จรูป (Test kit) ของบริษัท Clinag

ใช้ตัวอย่างที่ได้จากการย่อยตามข้อ 2.4.6.1 มาเจือจางจนได้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมปริมาตร 50 ไมโครลิตร เติมบัฟเฟอร์รีเอเจนต์ (buffer reagent) 2 มล. ผสมให้เข้ากันด้วย color reagent 2 มล. (color reagent ประกอบด้วย O-cresolphthalein complexone dye และ 8 hydroxyquinoline) ผสมให้เข้ากันดีนำไปวัดการ ดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร คำนวณปริมาณแคลเซียมเทียบกับกราฟมาตรฐานของแคลเซียมที่ระดับความเข้มข้น 15-20 มก.ต่อ 100 มล. คำนวณค่าปริมาณแคลเซียมดังนี้

$$\text{ปริมาณแคลเซียม (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักแคลเซียมทั้งหมดที่คำนวณได้} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ย่อย}}$$

2.4.6.3 การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัส ใช้วิธี vonadomolybdate

ปริมาณฟอสฟอรัสดำเนินการวิเคราะห์ด้วยวิธีเทียบสี (colorimetric technique) โดยทำปฏิกิริยากับ vonadomolybdate ตามวิธีแนะนำโดย A.O.A.C.(1990) โดยใช้ตัวอย่างที่ได้จากการย่อยตามข้อ 2.4.6.1 มาเจือจางจนได้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมปริมาตร 1 มล. เติมสารละลาย vonadomolybdate 5 มล. เขย่าให้เข้ากันวางตั้งไว้ 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร คำนวณค่าปริมาณของฟอสฟอรัสเทียบกับกราฟมาตรฐานฟอสฟอรัสเข้มข้น 5-30 มก.ต่อลิตร คำนวณค่าปริมาณฟอสฟอรัสดังนี้

$$\text{ปริมาณฟอสฟอรัส (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักฟอสฟอรัสทั้งหมดที่คำนวณได้} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ย่อย}}$$

2.4.7 การวิเคราะห์ปริมาณพลังงานในตะกอนโดยใช้การเผาใน adiabatic bomb calorimeter

ปริมาณพลังงานในตัวอย่างตะกอนดำเนินการวิเคราะห์โดยการเผาใน adiabatic bomb calorimeter แล้ววัดพลังงานความร้อนที่ปล่อยออกมา วิธีวิเคราะห์ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนสำคัญคือ การอัดเม็ดตัวอย่าง การหาค่าความจุความร้อนของ

adiabatic bomb calorimeter และการหาค่าปริมาณความร้อนของตัวอย่าง ซึ่งมีรายละเอียดของแต่ละขั้นตอนดังนี้

2.4.7.1 การอัดเม็ดตัวอย่าง

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างตะกอนให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.6-0.8 กรัม นำไปอัดเม็ดโดยเครื่องอัดเม็ดตัวอย่างสำหรับหาค่าพลังงาน นำไปอบเพื่อลดความชื้นที่อุณหภูมิ 60°ซ เป็นเวลา 24 ชม. แล้วเก็บตัวอย่างใน desicater เพื่อเตรียมหาค่าพลังงานต่อไป

2.4.7.2 การหาค่าความจุความร้อนของ adiabatic bomb calorimeter

ชั่ง benzoic acid 0.5-0.7 กรัม นำไปอัดเม็ดและอบที่อุณหภูมิ 60°ซ เป็นเวลา 24 ชม. ใส่ในถ้วยเผาแล้วประกอบชุดเผาตัวอย่าง บรรจุก๊าซออกซิเจนให้มีแรงดันภายในเท่ากับ 30 ปอนด์/ตารางนิ้ว เผาตัวอย่างในเครื่อง adiabatic bomb calorimeter บันทึกระดับอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น นำมาคำนวณหาค่าความจุความร้อนของ adiabatic bomb calorimeter ดังนี้

$$\text{Heat capacity (Joules/}^{\circ}\text{C)} = \frac{(AxB) + (CxD) + (ExF)}{T}$$

A = ค่าพลังงานของ benzoic acid (26441.6 จูล/กรัม)

B = น้ำหนักของ benzoic acid (กรัม)

C = ค่าพลังงานของด้ายที่ใช้ประกอบในชุดเผา (17489.12 จูล/กรัม)

D = น้ำหนักของด้ายที่ใช้ประกอบในชุดเผา (กรัม)

E = ค่าพลังงานของลวดนิโครมที่ใช้ประกอบในการเผา (1409.64 จูล/กรัม)

F = น้ำหนักของลวดนิโครม (กรัม)

T = ค่าของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น (°ซ)

2.4.7.3 การหาค่าปริมาณความร้อนของตัวอย่าง

ใช้ตัวอย่างที่ผ่านการอัดเม็ดตามข้อ 2.4.7.1 ใส่ในถ้วยเผา ประกอบชุดเผาตัวอย่างบรรจุก๊าซออกซิเจนให้มีแรงดันภายในเท่ากับ 30 ปอนด์/ตารางนิ้ว ทำการเผาตัวอย่างในเครื่อง adiabatic bomb calorimeter บันทึกค่าของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น นำมาคำนวณระดับพลังงานของตัวอย่างดังนี้

$$\text{ค่าพลังงานความร้อนของตัวอย่าง (จูล/กรัม)} = \frac{(HxT) - (AxB) - (C-D)}{M}$$

H = heat capacity ของเครื่อง adiabatic bomb calorimeter จากที่คำนวณได้ในข้อ 2.4.7.2

T = อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจากการเผาตัวอย่าง (^{o}ซ)

A = ค่าพลังงานของด้ายที่ใช้ประกอบในชุดเผา (17489.12 จูล/กรัม)

B = น้ำหนักของด้ายที่ถูกเผาไปในชุดเผา (กรัม)

C = ค่าพลังงานของลวดที่ใช้ประกอบในชุดเผา (1401.64 จูล/กรัม)

D = น้ำหนักของลวดที่ถูกเผาไปในชุดเผา (กรัม)

M = น้ำหนักของตัวอย่างที่ทำการเผา (กรัม.)

2.4.8 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดแอมิโนในตะกอนน้ำเสีย ด้วย high performance liquid chromatographic technique (HPLC)

ชนิดและปริมาณกรดแอมิโนในน้ำเสียวิเคราะห์ด้วย HPLC ดำเนินการโดยชั่งตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย 0.1 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง เติม 6 M HCl 10 มล. ที่มี α-amino-butyric acid (200 ไมโครโมล/มล.) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เป็น internal standard ปิดปากหลอดให้สนิทด้วยเปลวไฟอุณหภูมิสูง เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยา oxidation ขณะที่เกิดปฏิกิริยาย่อยสลายโปรตีน นำไปเข้าเครื่องผสมให้เข้ากันด้วยความถี่สูง (ultrasonic) แล้วย่อยในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 110 ^{o}ซ เป็นเวลา 17 ชม. ตั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วจึงเปิดปากหลอดย่อยออก กรองสารละลายที่ย่อยแล้วผ่านไส้กรอง millipore ขนาด 0.45 μmด้วยชุดกรองกรดแอมิโน นำสารละลายที่กรองได้ 10 ไมโครลิตร ใส่ใน Durham tube (เส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มม.) ระเหยให้แห้งภายใต้ความดันต่ำด้วยเครื่องดูดสูญญากาศ แล้วจึงเติม redried solution 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันดีแล้วระเหยให้แห้งอีก 2 ครั้ง ตามด้วยเติมสารละลาย derivertizing reagent 20 ไมโครลิตร ระเหยให้แห้ง 2 ครั้ง แล้วจึงเติม amino acid diluent ผสมให้เข้ากันดี นำไปฉีดเข้าเครื่อง High performance liquid chromatography ครั้งละ 15 ไมโครลิตร เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดแอมิโน

2.4.9 กรดไขมันในตะกอนน้ำเสีย ทำการวิเคราะห์ โดยใช้ Gas liquid chromatographic technique (GLC)

ใช้ตัวอย่างไขมัน (crude lipid) จากข้อ 2.4.4 ละลายในสารละลายคลอโรฟอร์ม:เมธานอล (2:1) ปริมาณ 15 มก. ใส่ในหลอดเตรียมตัวอย่างกรดไขมัน เติมสารละลาย heneicosanic acid เข้มข้น 1 มก./มล. ปริมาตร 1 มล. ระเหยให้แห้งภายใต้ก๊าซไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 40 °ซ แล้วจึงเติมสารละลาย boron trifluoride เข้มข้น 14% ในเมธานอล ปริมาตร 1 มล. บรรจุก๊าซไนโตรเจน แล้วปิดปากหลอดด้วยความร้อนนำไปทำให้เกิดปฏิกิริยา esterification ในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100°ซ เป็นเวลา 1.5 ชม. ตั้งให้เย็น เปิดหลอดแล้วถ่ายสารละลายลงในหลอดพลาสติก ล้างสารละลายที่ตกค้างด้วยเมธานอล วัดปริมาตรสารละลายที่ได้ เติมน้ำกลั่น และ hexane ลงไป 1 และ 2 เท่าของสารละลายตามลำดับ ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งให้แยกชั้น ดูดสารละลายในชั้นบนที่เป็น hexane ลงในขวดขนาดเล็กที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไประเหย hexane จนแห้งสนิท ชั่งน้ำหนักของ fatty acid methyl ester ที่เหลืออยู่ในขวด แล้วจึงเติม hexane ลงไป 1 มล.เพื่อนำไปฉีดเข้าเครื่อง Gas – liquid chromatography เพื่อหาชนิดและปริมาณของกรดไขมัน

2.4.10 การแยกไขมันรวมออกเป็น neutral และ phospholipid classes

ใช้ตัวอย่างไขมันที่แยกได้จากการเตรียมตัวอย่างไขมันในหัวข้อ 2.4.4 นำมาระเหยให้แห้งที่อุณหภูมิ 40°ซ ภายใต้บรรยากาศของก๊าซไนโตรเจน แล้วละลายกลับด้วยคลอโรฟอร์มปริมาตร 1 มล.

ชั่ง silicic acid และ diatomaceous earth ที่อบแห้งสนิท 1.0 กรัม และ 0.5 กรัม ตามลำดับ ใส่ในบิกเกอร์เติมคลอโรฟอร์มประมาณ 10 มล. แล้วจึงบรรจุลงใน column โดยใช้ไซริงส์ขนาด 10 มล. ซึ่งป้องกันการไหลออกของ stationary phase ด้วย glass fiber filter หลังจาก equilibrate column ด้วย chloroform แล้วจึงเติมตัวอย่างไขมันรวมไม่เกิน 20 มก. ไขมันรวมจากตัวอย่างชนิดต่าง ๆ จะถูกแยกออกเป็น 2 ส่วนเพื่อวิเคราะห์เชิงปริมาณ คือ neutral lipid และ phospholipid ตามที่แนะนำโดย Chandumpai (1989)

ขั้นที่ 1 ชะด้วยคลอโรฟอร์มปริมาตร 40 มล. เก็บส่วนที่ชะได้ในขวดรูปแพร์ สารละลายส่วนนี้ประกอบด้วยไขมันในกลุ่มของ neutral lipid ซึ่งไม่จับกับ silicic acid

ขั้นที่ 2 ชะด้วยเมธานอลปริมาตร 40 มล. สารละลายส่วนนี้เกาะติดกับ stationary phase เมื่อใช้เมธานอลเป็น mobile phase ส่วนที่ประกอบด้วยไขมันในกลุ่ม

phospholipid จะถูกชะออกมา

นำสารละลายที่ได้ในขวดรูปแพร์ไประเหยภายใต้ความดันต่ำที่อุณหภูมิ 60°ซ ด้วยเครื่อง rotary evaporator จนแห้ง นำมาละลายกลับด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตรน้อยๆ ลงในขวดฝาเกลียวขนาดเล็ก (vial) ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไประเหยตัวทำละลายให้แห้งที่อุณหภูมิ 40°ซ ภายใต้บรรยากาศของก๊าซไนโตรเจน แล้วนำไประเหยตัวทำละลายที่ตกค้างออกด้วยเครื่องดูดสูญญากาศเป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนัก neutral lipid และ phospholipid ที่ได้

2.4.11 การแยกลำดับชั้นของ neutral lipid

แยกลำดับชั้นของ neutral lipid โดย thin layer chromatographic technique (ดัดแปลงจาก Chandumpai, 1989) ใช้ตัวอย่าง neutral lipid ที่แยกได้ในข้อ 2.4.10 มาระเหยให้แห้งที่อุณหภูมิ 40°ซ ภายใต้บรรยากาศของก๊าซไนโตรเจน แล้วเติมคลอโรฟอร์มลงไป 1 มล. ทำการ spot ตัวอย่าง ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนแผ่น TLC ให้เป็นวงกลมขนาดเล็ก ตั้งให้แห้งแล้วนำแผ่น TLC ลงจุ่มในสารละลายชะภายใน TLC chamber (สารละลายชะประกอบด้วย petroleum ether 40 มล., diethyl ether 4 มล., acetic acid 1 มล.) ปล่อยให้สารละลายชะเคลื่อนที่ถึงความสูง 9.5 ซม. แล้วนำออกมาตั้งระเหยให้แห้ง ฉีดพ่นแผ่น TLC ที่ได้ด้วย 3% $CuSO_4$ ใน 6% H_3PO_4 จนทั่วแผ่น แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 180°ซ ในตู้อบลมร้อน เป็นเวลา 15 นาที นำมาสังเกตการแยกส่วนประกอบภายใน neutral lipid โดยเทียบกับการแยกของสารละลายมาตรฐาน ของ neutral lipid ในคลอโรฟอร์มที่ spot ลงไปในแผ่น TLC แผ่นเดียวกัน ในปริมาตรที่เท่ากัน

สารละลาย neutral lipid มาตรฐานประกอบด้วย

monoglyceride เข้มข้น 1.5 มก./มล.

1,2-diglyceride เข้มข้น 1.5 มก./มล.

1,3-diglyceride เข้มข้น 1.5 มล./มล.

cholesterol เข้มข้น 1 มก./มล.

free fatty acid เข้มข้น 1 มก./มล.

triglyceride เข้มข้น 1 มก./มล.

cholesteryl ester เข้มข้น 1 มก./มล.

2.4.12 triglyceride

ตรวจหาปริมาณ triglyceride ตามวิธีที่แนะนำโดย Henry *et al*. (1974) ใช้ตัวอย่างไขมัน (crude lipid) ที่สกัดได้ในข้อ 2.4.4 เจือจางด้วย chloroform ให้มีระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ดวงสารละลายตัวอย่าง 0.5 มล. ใส่ในหลอดทดลองระเหยให้แห้งใน water bath ที่อุณหภูมิ 70 °ซ โดยการพ่นเบา ๆ ด้วยก๊าซไนโตรเจน เติม alcoholic KOH 0.5 มล. ผสมให้เข้ากัน แช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 60-70 °ซ เป็นเวลา 20 นาที ตั้งให้เย็นแล้วเติม 0.2 N H_2SO_4 0.5 มล. ผสมให้เข้ากัน แช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 12 นาที ตั้งให้เย็นแล้วเติมสารละลาย 0.5% sodium metaperiodate 0.1 มล. ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที แล้วเติม 5% sodium bisulfite 0.1 มล. ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงเติม 0.38% chromotropic acid 5 มล. ผสมให้เข้ากันแล้วปิดฝาให้แน่นนำไปจุ่มในน้ำเดือด เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เย็นลงถึงอุณหภูมิห้องอย่างรวดเร็ว เติม 7% thiourea 0.5 มล. ผสมให้เข้ากันดี นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณปริมาณ triglyceride เทียบกับกราฟมาตรฐาน (ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน triglyceride 0.05 ถึง 0.6 มก./ มล.)

2.4.13 cholesterol

ตรวจหาปริมาณ cholesterol ตามวิธีที่แนะนำโดย Henry *et al*. (1974) ใช้ตัวอย่าง neutral lipid ที่สกัดได้ในข้อ 2.4.10 เจือจางด้วย chloroform ให้ได้ความเข้มข้นที่พอเหมาะ ดูดสารละลายตัวอย่าง 250 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียว เติม alcoholic KOH 2.5 มล. ผสมให้เข้ากันแล้วปิดฝาให้แน่น แช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 37-40 °ซ เป็นเวลา 55 นาที ตั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติม petroleum ether 5.0 มล. ผสมให้เข้ากัน เติมน้ำ 2.5 มล. ปิดฝาแล้วเขย่าอย่างแรงเป็นเวลา 1 นาที แล้วจึงนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 250 g 5 นาที ดูดเก็บชั้น petroleum ether (ชั้นบน) 2.0 มล. ใส่หลอดทดลองฝาเกลียว ระเหย petroleum ether ออกไปใน water bath ที่อุณหภูมิ 60 °ซ โดยการพ่นเบา ๆ ด้วยก๊าซไนโตรเจน เมื่อแห้งดีแล้ววางหลอดลงใน water bath ที่อุณหภูมิ 25 °ซ เติมสารละลาย Liebermann-Burchard 3 มล. เขย่าอย่างแรง 5 วินาที วางกลับใน water bath ทิ้งไว้ 30 นาที แล้วจึงนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณ cholesterol โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ cholesterol (ความเข้มข้น 1 ถึง 6 มก./มล.)

2.4.14 การตรวจหาปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ (soluble protein) ในตะกอนน้ำเสีย

การสกัดโปรตีนที่ละลายได้

วิธีที่ 1 ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย โดยการเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสารละลาย (vortex mixer)

วิธีที่ 2 ใช้ 0.1 N NaOH เป็นตัวทำละลาย โดยสกัดด้วยคลื่นความถี่สูง (ultrasonic) เป็นเวลา 5 นาที

วิธีที่ 3 ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายโดย homogenized ด้วยความเร็ว 5,000 rpm เป็นเวลา 2, 4, 6, 8, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ

วิธีที่ 4 ใช้ 0.1 N NaOH เป็นตัวทำละลายสกัด โดย homogenized ด้วยความเร็ว 5,000 rpm เป็นเวลา 2, 4, 6, 8,10 และ 15 นาที ตามลำดับ

ในแต่ละวิธีของการสกัดใช้ตะกอนน้ำเสีย 0.2 กรัม เติมตัวทำละลายที่ใช้สกัด 10 มล. นำไปสกัดตามวิธีการที่กล่าวมา นำของผสมที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8000 G. แยกส่วนใสออกมาเพื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Lowry (Tietz, 1982) โดยเจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม แล้วแบ่งมา 0.1 มล. เพื่อทำปฏิกิริยากับ 3.0 มล. alkali copper solution เขย่าให้เข้ากันดีตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเติม 0.3 มล. Folin ciocalteau solution เขย่าให้เข้ากันดี วางไว้ 30 นาที เพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดอย่างสมบูรณ์ แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าที่ได้นำมาคำนวณหาปริมาณโปรตีนโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Bovine serum albumin 62.5 – 1000 ไมโครกรัม/มล.

2.5 การทดสอบระดับการย่อยได้ที่แท้จริงของตะกอนน้ำเสียในไก่ (วิธีการตาม Sibbald,1982)

เพื่อทดสอบว่าเมื่อนำตะกอนน้ำเสียมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตอาหารสัตว์ สารโภชนะต่าง ๆ ที่วิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการจะถูกย่อยและดูดซึมได้มากน้อยเพียงใด ในที่นี้ใช้ไก่พันธุ์ฮับบาร์ดเพศผู้เป็นต้นแบบ (model) และแผนการทดลองดำเนินการตามวิธีที่แนะ-

นำโดย Sibbald (1982) คือใช้ไก่เพศผู้ อายุ 8 –9 เดือน จำนวน 8 ตัว แยกขังเดี่ยวในกรงขนาดกว้าง 30 ซม. ยาว 47 ซม. สูง 50 ซม. อากาศถ่ายเทสะดวก และมีแสงไม่น้อยกว่า 12 ชม./วัน ในระยะปรับสภาพ ให้สัตว์ทดลองได้รับอาหารไก่ไข่ (19.5% โปรตีน) และน้ำตามปกติเป็นเวลาอย่างน้อย 2 วัน เริ่มการทดลองโดยให้ไก่ทั้งหมดอดอาหาร เป็นเวลา 24 ชม. แต่ให้น้ำตามปกติ เก็บมูลและปัสสาวะที่ขับถ่ายออกมาด้วยชุดเครื่องมือ Harness 2 ครั้ง คือที่เวลา 24 และ 48 ชม. หลังเริ่มการทดลอง อบมูลและปัสสาวะไก่ที่ได้ในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 °ซ จนแห้งสนิท ชั่งน้ำหนัก บดละเอียดแล้วเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง ที่อุณหภูมิ -10 °ซ มูลและปัสสาวะที่ได้คือสิ่งขับถ่ายในสภาวะอดอาหาร

หลังจากนั้นสัตว์ทดลองจะได้รับน้ำและอาหารไก่ไข่ตามปกติเป็นเวลา 2-3 วัน เพื่อให้ร่างกายปรับระบบการกิน การย่อย การดูดซึมกลับคืนสู่สภาพเดิม จากนั้นจึงอดอาหารเป็นเวลา 24 ชม. อีกครั้ง แล้วป้อนตะกอนน้ำเสียลงสู่กระเพาะโดยตรง (force feeding) ตัวละ 40 กรัม เก็บมูลและปัสสาวะที่ขับถ่ายออกมาหลังได้รับอาหาร 24 และ 48 ชม. นำมาอบแห้ง ชั่งน้ำหนัก และบดละเอียดแล้วเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -10 °ซ มูลและปัสสาวะที่ได้คือสิ่งขับถ่ายจากการได้รับตะกอนน้ำเสีย 40 กรัม หาค่าส่วนประกอบทางโภชนะ ในสิ่งขับถ่ายทั้งสองครั้งที่เก็บได้ เพื่อวิเคราะห์การย่อยได้ที่แท้จริง ของตะกอนน้ำเสียในไก่

$$\text{ร้อยละของการย่อยได้ที่แท้จริง} = \frac{A - (B - C) \times 100}{A}$$

A = ปริมาณของส่วนประกอบทางโภชนาการที่ได้รับจากตะกอนน้ำเสีย 40 กรัม

B = ปริมาณของส่วนประกอบทางโภชนาการที่ขับออกเมื่อได้รับตะกอนน้ำเสียปริมาณ 40 กรัม

C = ปริมาณของส่วนประกอบทางโภชนาการที่ขับออกในมูลและปัสสาวะที่ไม่ได้รับอาหาร

2.6 คำนวณอัตราส่วนที่เหมาะสมของตะกอนน้ำเสีย เพื่อผสมลงในอาหารไก่กระทง

ถ้าส่วนประกอบทางโภชนาการของตะกอนน้ำเสีย มีความเหมาะสมที่จะเป็นส่วนประกอบของอาหารไก่กระทงเพื่อลดต้นทุนการผลิต จะนำข้อมูลส่วนประกอบดังกล่าวนั้นมาใช้ในการคำนวณหาสัดส่วนที่จะเติมลงในอาหารไก่กระทง เพื่อให้ได้อาหารที่มีมาตรฐานตาม

NRC (1994) สำหรับเลี้ยงไก่กระทงอายุ 4-6 สัปดาห์ รวมทั้งวิเคราะห์ต้นทุนการผลิต โดยมีวัตถุดิบอาหารคือ กากถั่วเหลือง ข้าวโพด ปลาป่น น้ำมันปาล์ม เปลือกหอยบด วิตามินรวม เกลือแร่รวม เกลือโซเดียมคลอไรด์ ไดแคลเซียมฟอสเฟต กรดแอมิโนชนิด DL-methionine และ L-lysine คำนวณสูตรอาหารเป็น 6 สูตรคือ

สูตรที่ 1 อาหารสำหรับเลี้ยงไก่เล็กอายุ 0-3 สัปดาห์ (starter) โดยใช้วัตถุดิบอาหารปกติ ไม่มีส่วนประกอบที่เป็นตะกอนน้ำเสีย

สูตรที่ 2 อาหารชุดควบคุมสำหรับเลี้ยงไก่อายุ 3-6 สัปดาห์ (grower) โดยใช้วัตถุดิบอาหารปกติไม่มีส่วนประกอบที่เป็นตะกอนน้ำเสีย

สูตรที่ 3 อาหารสำหรับเลี้ยงไก่เล็กอายุ 3-6 สัปดาห์ โดยมีตะกอนน้ำเสียเป็นส่วนประกอบ 2.5% โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 4 อาหารสำหรับเลี้ยงไก่เล็กอายุ 3-6 สัปดาห์ โดยมีตะกอนน้ำเสียเป็นส่วนประกอบ 5.0% โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 5 อาหารสำหรับเลี้ยงไก่เล็กอายุ 3-6 สัปดาห์ โดยมีตะกอนน้ำเสียเป็นส่วนประกอบ 7.5% โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 6 อาหารสำหรับเลี้ยงไก่เล็กอายุ 3-6 สัปดาห์ โดยมีตะกอนน้ำเสียเป็นส่วนประกอบ 10.0% โดยน้ำหนัก

2.7 การหาปริมาณโพแทสเซียมและแมกนีเซียมในตะกอนน้ำเสีย

ชั่งตัวอย่างตะกอนน้ำเสีย 0.5 กรัม ใส่ในหลอดย่อยตัวอย่าง เติมสารละลายสำหรับย่อยตัวอย่างเพื่อตรวจหาปริมาณโพแตสเซียมและแมกนีเซียม ปริมาณ 15 มล. ทำการย่อยด้วยความร้อนบนเตาย่อยที่อุณหภูมิ 80°ซ จนไม่มีควันสีน้ำตาล แล้วเพิ่มความร้อนเป็น 190°ซ จนหมดควันสีเหลืองแล้วให้ความร้อนต่ออีก 2 ชั่วโมง จนได้สารละลายใส ตั้งให้เย็นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากอิออนให้เป็น 50 มล. นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณโพแตสเซียมและแมกนีเซียมด้วย atomic absorption spectrophotometer (A.O.A.C., 1995)