

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้แบ่งออกเป็น 3 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 ศึกษาสัณฐานวิทยา และนิเวศวิทยา ของสาหร่ายผสมนาง กราซีลาเรีย พืชเซอไร ณ จุดเก็บที่กำหนด

ตอนที่ 2 วิเคราะห์ปริมาณสารอาหารของสาหร่ายผสมนาง กราซีลาเรีย พืชเซอไร ที่เก็บจากพื้นที่ที่กำหนด บริเวณชายฝั่งทะเลสาบสงขลาตอนในและตอนนอก

ตอนที่ 3 ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณของสารอาหารในสาหร่ายผสมนาง กราซีลาเรีย พืชเซอไร ที่ต่างนิเวศวิทยาและต่างระยะเวลาในแต่ละช่วงเวลาที่เก็บมาศึกษาวิจัย

ตอนที่ 1 ศึกษาสัณฐานวิทยาและนิเวศวิทยาของสาหร่ายผสมนาง กราซีลาเรีย พืชเซอไร ณ จุดเก็บที่กำหนด

การศึกษาสัณฐานวิทยา และนิเวศวิทยาของสาหร่ายผสมนาง กราซีลาเรีย พืชเซอไร บริเวณพื้นที่กำหนดจุดเก็บ บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนในและตอนนอก มีรายละเอียดดังนี้

1. อุปกรณ์ที่ใช้ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาด้านสัณฐานวิทยา
- อุปกรณ์ที่ใช้ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาด้านสัณฐานวิทยา มีดังต่อไปนี้
 1. กล้องจุลทรรศน์
 2. สไลด์และกระจกปิดสไลด์
 3. Ocular micrometer และ Stage
 4. ไบมีคโคโน
 5. เข็มเขี่ย
 6. ปากคีบ
 7. ไม้โปรแทคเตอร์และไม้บรรทัดเหล็ก
 8. กล้องถ่ายรูป Nikon รุ่น FM - 2

9. ฟิล์มถ่ายรูป Kodak Gold รุ่น 200
10. ไมโครมิเตอร์ (micrometer)

2. อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์คุณภาพน้ำทะเล

อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์คุณภาพน้ำทะเล มีดังต่อไปนี้

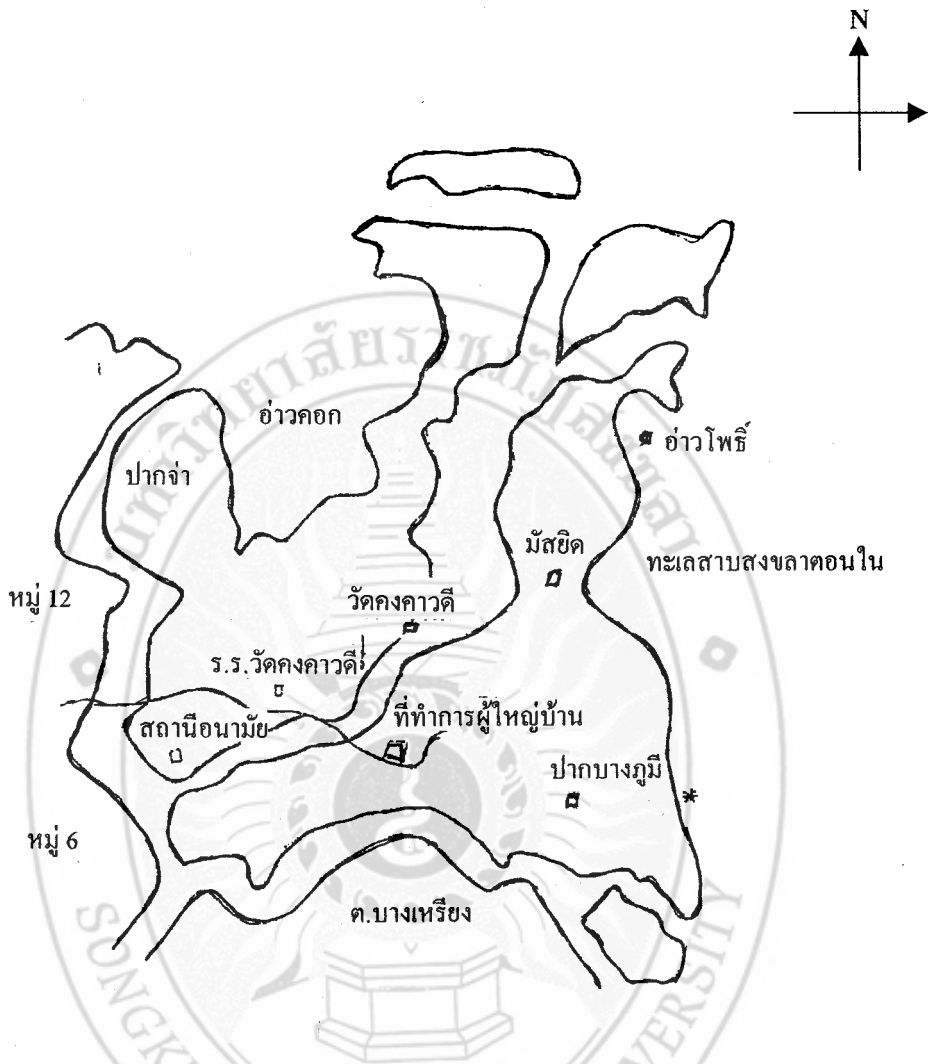
1. เทอร์มอมิเตอร์ ใช้สำหรับวัดอุณหภูมิของน้ำ
2. Water checker U - 10 ใช้สำหรับวัดค่า พีเอช ความเค็ม และความขุ่น (turbidity) ของน้ำ
3. เซคชีดิสก์ (secchi disk) ใช้วัดความโปร่งแสงของน้ำ และใช้วัดความลึกของระดับน้ำทะเล
4. แกลลอนพลาสติกบรรจุตัวอย่างน้ำ ความจุ 2 ลิตร
5. คลิปเทปวัดความยาวหน่วยเป็นเมตร

3. กำหนดจุดเก็บตัวอย่าง

สาหร่ายผมนาง กราซีลาเรีย พืชเซอไร ที่เก็บรวบรวมจากบริเวณชายฝั่งทะเลสาบสงขลาตอนในและตอนนอก โดยวิธีการกำหนดพื้นที่ ดังนี้ (ภาพที่ 3.1 - 3.3)

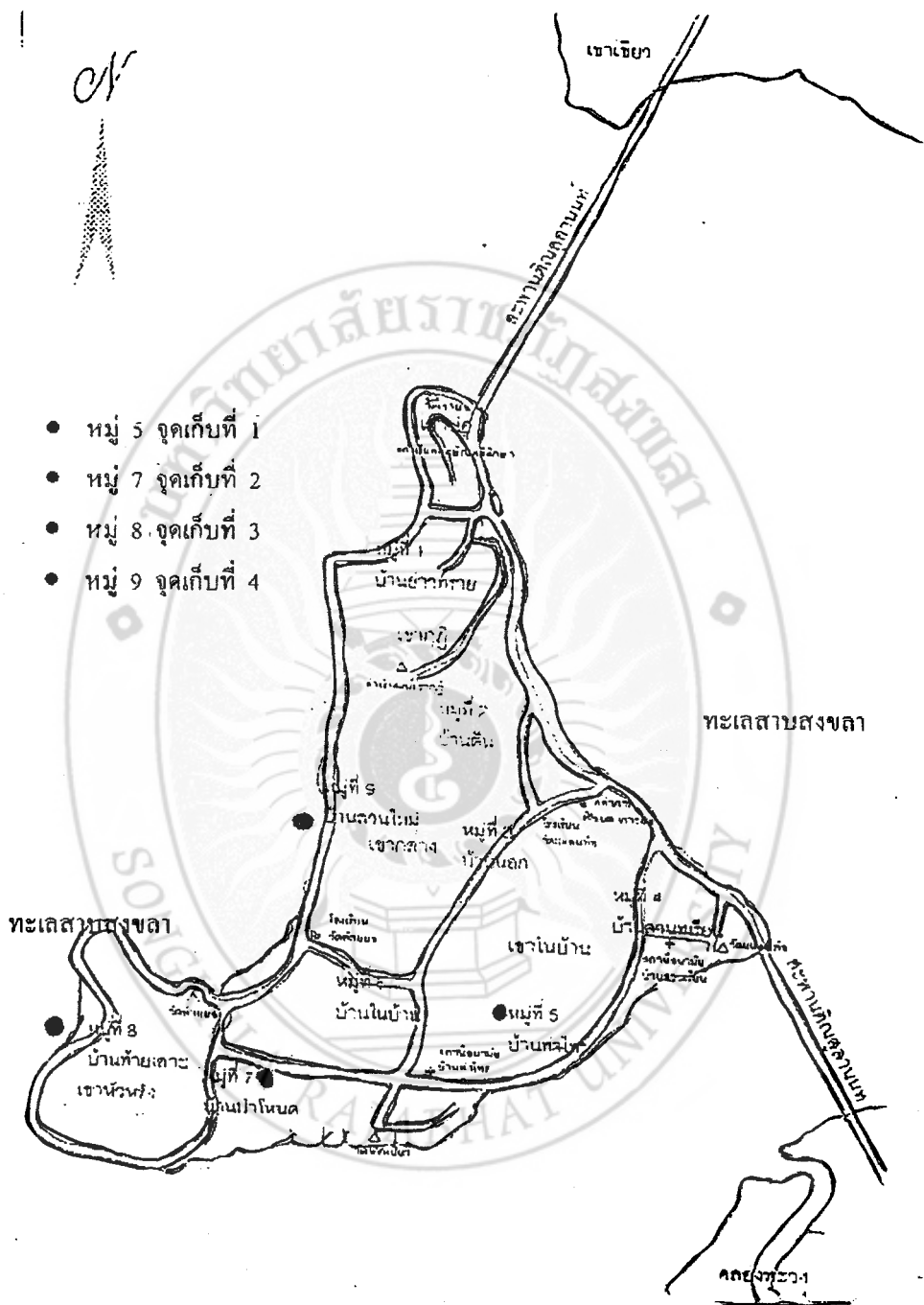
1. ตำบลควนเนียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา
2. ตำบลเกาะข่อย อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา
3. ตำบลสิงหน้อง อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา
4. ตำบลหัวเขา อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา

จุดเก็บตัวอย่างสาหร่ายผมนาง กราซีลาเรีย พืชเซอไร ทั้ง 4 จุดนั้น ผู้วิจัยได้สำรวจแล้วพบว่า มีสาหร่ายผมนางมากพอสมควรที่จะเก็บตัวอย่างมาศึกษาและวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารในช่วงระยะเวลาตลอดปี

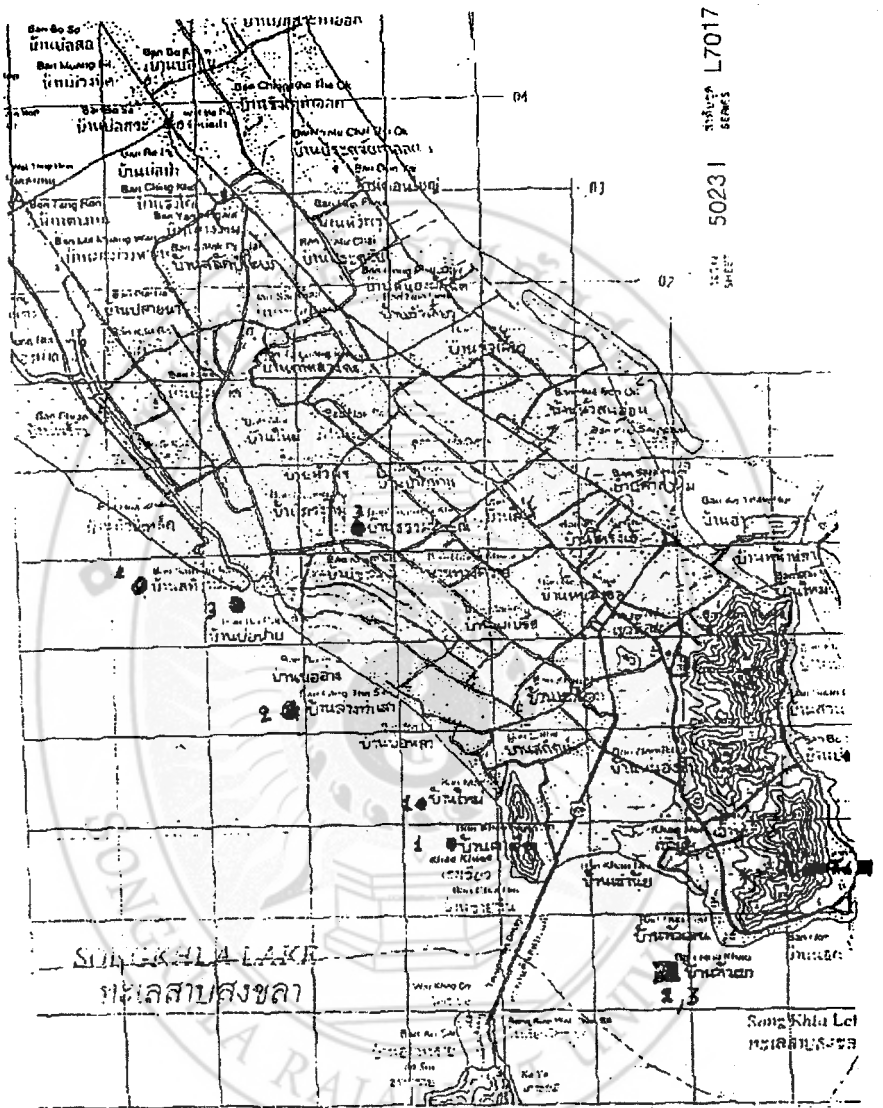


ภาพที่ 3.1 แผนที่แสดงอาณาเขต ตำบลควนเนียง อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา

ที่มา : แผนที่ตำบลควนเนียง (แผนที่) กรุงเทพฯ : กรมประมง, 2539.



ภาพที่ 3.2 แสดงพื้นที่จุดเก็บตัวอย่าง ตำบลเกาะข่อย อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา
ที่มา : แผนที่ตำบลเกาะข่อย (แผนที่) กรุงเทพฯ: กรมประมง, 2539.



ภาพที่ 3.3 แสดงพื้นที่จุดเก็บตัวอย่าง ตำบลสทิงหม้อ และตำบลหัวเขา อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา

ที่มา : สมภพ อินทสุวรรณ สาหร่ายในทะเลสาบสงขลา บริเวณทะเลน้อย 2525 : 3

4. วิธีดำเนินการศึกษาวิจัยด้านสัตววิทยา

การศึกษาด้านสัตววิทยาของสาหร่ายพมนางจากจุดเก็บตัวอย่างนำมาศึกษาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏสงขลา โดยศึกษาจากกล้องจุลทรรศน์ แวนชยาย ถ่ายภาพสาหร่ายแต่ละจุดเก็บ วัดความยาว ความกว้าง (เส้นผ่าศูนย์กลาง) การแตกแขนงสาขาของทัลลัส วัดความยาวของโฮลด์ฟาสท์ บันทึกข้อมูลในรูปตารางแต่ละจุดเก็บ

4.1 การวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของทัลลัส ใช้วัดคูเปอร์น์ และวิธีวัดดังนี้

(1) วัดคูเปอร์น์

ไมโครมิเตอร์

(2) วิธีวัด

- 1) นำสาหร่ายวางไว้ที่ปากวัดของไมโครมิเตอร์
- 2) ปรับปุ่มหยาบให้เข้าใกล้วัตถุ
- 3) ปรับปุ่มละเอียดจนกว่าจะได้ยินเสียง “แกร๊ก” 1 ครั้ง
- 4) นำสาหร่ายออกจากปากวัด อ่านค่าที่ได้ แล้วบันทึกผล

คล้ายสกรู ดังภาพที่ 3.4



ภาพที่ 3.4 ไมโครมิเตอร์ ใช้วัดเส้นผ่าศูนย์กลางสาหร่ายพมนาง กราซิลารีเบ ฟิงเชอไร



ภาพที่ 3.5 ขวดเก็บตัวอย่างน้ำ ขนาด 2 ลิตร



ภาพที่ 3.6 เทอร์มอมิเตอร์แบบเซลเซียส ใช้ในการวัดอุณหภูมิของน้ำ

4.2 การบันทึกภาพสาหร่ายพมนาง กราซิลารีเย ฟิเซอไร ถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ Nikon รุ่น FM-2 ขยายภาพด้วยเลนส์ถ่ายใกล้ (close up lens) เบอร์ 1-4 โดยใช้กระดาษแข็งสีขาวเทารองรับสาหร่าย วางไม้บรรทัดไว้ข้าง ๆ ตั้งกล้องบนขาตั้ง เพื่อป้องกันการสั่นไหว

การเก็บรวบรวมตัวอย่างสาหร่ายที่วินิจฉัยเสร็จแล้ว เพื่อการศึกษาต่อไป โดยเลือกสาหร่ายที่สมบูรณ์ ล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งให้สะเด็ดน้ำ แล้วดองด้วยแอลกอฮอล์ 3 เปอร์เซ็นต์

5. วิธีดำเนินการศึกษาวิจัยด้านนิเวศวิทยา

การศึกษานิเวศบางประการที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายพมนาง กราซิลารีเย ฟิเซอไร ณ จุดเก็บที่กำหนดโดยนำมาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

5.1 การเก็บตัวอย่างน้ำ โดยใช้วิธีที่เรียกว่า การเก็บแบบตัวอย่างแยก (Grab sampling) ใช้วัสดุอุปกรณ์ และวิธีวัดดังนี้

(1) อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างน้ำ

- 1) ขวดเก็บตัวอย่างน้ำขนาด 2 ลิตร
- 2) เทปกาวยึดข้างขวดเพื่อบอกจุดเก็บตัวอย่างน้ำที่เก็บจากจุดเก็บ จะนำไปหาค่าพารามิเตอร์ดังนี้

5.2 วิธีการหาค่าอุณหภูมิ ใช้วัสดุอุปกรณ์ และวิธีวัดดังนี้

(1) วัสดุอุปกรณ์

เทอร์มอมิเตอร์ แบบองศาเซลเซียส

(2) วิธีการวัด

- 1) เลือกเทอร์มอมิเตอร์ที่มีช่วงอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดให้เหมาะสม
- 2) นำเทอร์มอมิเตอร์จุ่มลงไปในพื้นที่
- 3) ใช้ที่จับหลอดทดลอง จับเทอร์มอมิเตอร์ให้ตั้งตรงหรืออาจใช้นิ้วจับเพียงส่วนปลายบนของเทอร์มอมิเตอร์
- 4) ในการอ่านอุณหภูมิ ต้องให้สายตาอยู่ในระดับเดียวกับของเหลวในเทอร์มอมิเตอร์

5) เมื่อใช้เสร็จแล้วทำความสะอาด เซลล์ให้แห้งและเก็บใส่กล่องให้เรียบร้อย

5.3 วิธีการหาค่ากรด-ด่าง และความขุ่นของน้ำ ใช้วัสดุอุปกรณ์ และวิธีวัดดังนี้

(1) วัสดุอุปกรณ์

วอเตอร์ เซลเลอร์ ยู-10

(2) วิธีการวัด

ก่อนอื่นต้องปรับเครื่องด้วย pH Standard Solution 100-4 ก่อนนำน้ำตัวอย่างประมาณ 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ ขนาด 600 มิลลิลิตร

1) กดปุ่ม “Power” เปิดเครื่องและจุ่ม Sensor ลงในน้ำตัวอย่าง อย่างช้า ๆ

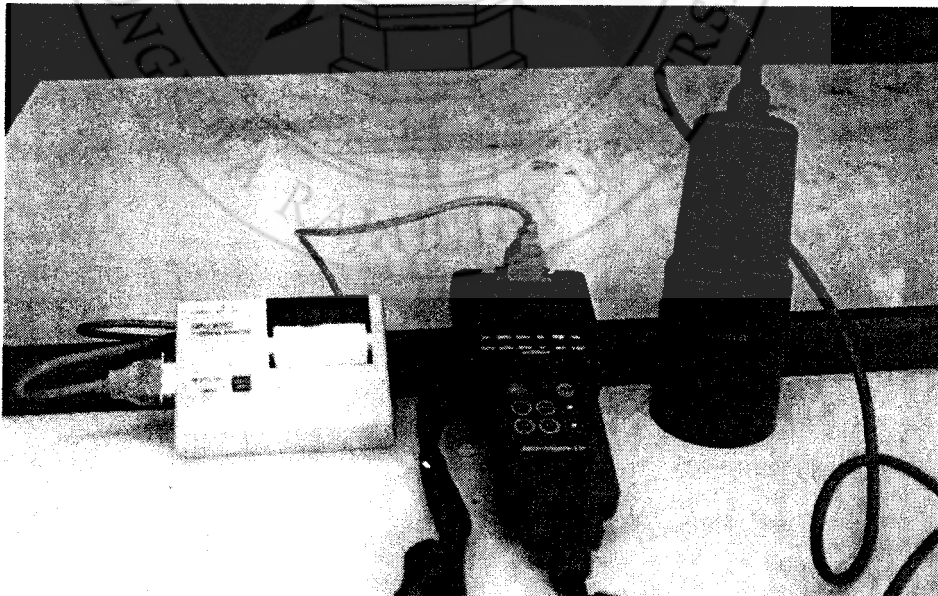
2) กดปุ่ม “Mode” ให้อยู่ใน measurement state (ซึ่งจะมีอักษร “MEAS” ปรากฏอยู่ที่มุมด้านซ้ายมือของหน้าจอ)

3) กดปุ่ม “Select” เพื่อเลือกค่าพารามิเตอร์ที่สนใจให้แสดงบนหน้าจอ

4) กดปุ่ม “Exp” เมื่อต้องการทราบค่าที่ละเอียดมากขึ้น

5) กดปุ่ม “Power” ปิดเครื่องและล้าง Sensor ด้วยน้ำกลั่น

(ภาพที่ 3.7)



ภาพที่ 3.7 แสดงภาพวอเตอร์ เซลเลอร์ ยู-10 ใช้ในการหาค่าความเป็นกรด-เบส, ความลึกและความขุ่น

5.4 วิธีการหาค่าออกซิเจนละลายน้ำ (dissolved oxygen, D.O) ใช้วัสดุอุปกรณ์ และวิธีวัดดังนี้

(1) วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

- 1) ขวด B.O.D ขนาด 300 มิลลิลิตร พร้อมจุกปิดขวด
- 2) ฟลาสก์แก้วขนาด 250 มิลลิลิตร
- 3) บีเปดต์ ขนาด 10 มิลลิลิตร
- 4) ขวดแก้ววัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร
- 5) ลูกยาง
- 6) เครื่องมือไทเทรตอัตโนมัติ
- 7) Alkali - Iodide - Azide Solution (NaOH + NaI + NaN₃)
- 8) Manganese sulfate Solution (MnSO₄ .H₂O)
- 9) กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Conc.H₂SO₄)
- 10) น้ำแข็ง
- 11) สารละลายมาตรฐานโซเดียมไรโอซัลเฟต

(Na₂S₂O₃).025N

12) น้ำกลั่น

(2) วิธีการวิเคราะห์

- 1) นำน้ำตัวอย่างในขวด B.O.D. ขนาด 300 มิลลิลิตร จากจุดเก็บตัวอย่าง
- 2) เติมสารละลายแมงกานีสซัลเฟต 1 มิลลิลิตรและอัลคาไลด์ไฮโอไดรเอไซด์ 1 มิลลิลิตร ลงในขวด B.O.D. ที่บรรจุน้ำตัวอย่าง ปิดจุกขวดไม่ให้เกิดฟองอากาศ คว่ำขวดขึ้นลง 15 ครั้ง เพื่อให้สารเคมีผสมกับน้ำตัวอย่าง
- 3) ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนจนได้ปริมาณน้ำใส $\frac{1}{2}$ ของขวด

B.O.D.

- 4) เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไรโอซัลเฟต 0.025 N จนกระทั่งสารละลายมีสีเหลืองอ่อน เติมน้ำแข็ง 1 มิลลิลิตรจะได้สารละลายสีน้ำเงินเข้ม ไทเทรตต่อไปจนกระทั่งสีน้ำเงินหายไป ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไรโอซัลเฟต 1 มิลลิลิตรมีค่าเท่ากับออกซิเจนละลาย 1 มิลลิกรัม/ลิตร

การคำนวณออกซิเจนละลายในน้ำ

$$\begin{matrix} \text{ปริมาณออกซิเจน} & = & \text{ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์} \\ \text{(มิลลิกรัม/ลิตร)} & & \text{(มิลลิลิตร)} \end{matrix}$$



ภาพที่ 3.8 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการไทเทรต หาค่าออกซิเจนละลายในน้ำ

5.6 วิธีการหาความเข้มข้นและความลึกของน้ำ ใช้วัสดุอุปกรณ์ และวิธีวัด

ดังนี้

(1) วัสดุอุปกรณ์
เซคซิติดิสซ์

(2) วิธีการวัด

1) นำเซคซิติดิสซ์หย่อนลงไปใต้น้ำเรื่อย ๆ จนกระทั่งมองไม่

เห็นสีบนเซคซิติดิสซ์

2) ทำเครื่องหมายส่วนบนสุดของเชือกเซคซิติดิสซ์

3) วัดความยาวเชือกด้วยตลับเมตรจากตัวอย่างเซคซิติดิสซ์

จนถึงส่วนบนสุดที่ทำเครื่องหมายไว้

ถ้าเป็นการหาความเข้มแสง จะต้องหย่อนตัวเซคซิดิสซ์ ลงไปที่ลึกที่สุดเท่าที่ยังสามารถมองเห็นตัวเซคซิดิสซ์ ทำเครื่องหมายที่เส้นเชือกบริเวณผิวน้ำ นำมาวัดหาค่าความลึก จดบันทึกค่าที่ได้ หน่วยเป็นเซนติเมตร

ถ้าเป็นการหาความลึกของน้ำ โดยการหย่อนตัวเซคซิดิสซ์ ลงไปบริเวณที่วัดความเข้มแสงจนตัวเซคซิดิสซ์ถึงพื้นดิน ทำเครื่องหมายเชือกบริเวณผิวน้ำไว้ นำมาวัดหาความลึก จดบันทึกค่าที่ได้ หน่วยเป็นเซนติเมตร



ภาพที่ 3.9 เซคซิดิสซ์ ใช้วัดความเข้มแสง และความลึกของน้ำ

5.7 วิธีวัดความเค็มของน้ำ ใช้วัสดุอุปกรณ์ และวิธีวัดดังนี้

(1) วัสดุอุปกรณ์

วอเตอร์ เซคเกอร์ ยู-10

(2) วิธีการวัด

1) กดปุ่ม “Mode” แล้วกดปุ่ม Maintenance state (ซึ่งจะมีอักษร Maint ปรากฏอยู่ที่มุมบนด้านซ้ายของหน้าจอ)

2) กดปุ่ม “Mode” เพื่อเลื่อนตัวชี้ตำแหน่ง (cursor) ไปที่

- 3) กดปุ่ม Δ หรือ ∇ เพื่อตั้งค่าความเค็มโดยน้ำจืด ตั้งค่าไว้ที่ “0%” น้ำเค็มตั้งค่าไว้ที่ “0-4%” แต่ถ้าไม่ทราบค่าไว้ที่ “A”
- 4) กดปุ่ม “ENT” เพื่อบันทึกค่าที่ปรับได้
- 5) กดปุ่ม “Mode” กลับไปที่ “MEAS” เพื่อทำการวัดต่อไป

ตอนที่ 2 วิเคราะห์ปริมาณสารอาหารของสาหร่ายผสมนาง

กราซิลารีเรีย ฟิชเชอไร ที่เก็บจากพื้นที่ที่กำหนด

วิเคราะห์ปริมาณสารอาหารสาหร่ายผสมนาง กราซิลารีเรีย ฟิชเชอไร ที่เก็บจากพื้นที่ที่กำหนด 4 ตำบล คือ ตำบลควนเนียง บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนในและ ตำบลเกาะยอ ตำบลสทิงหม้อ และตำบลหัวเขา บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก โดยวิเคราะห์คุณค่าอาหาร ด้านไขมัน โปรตีน เส้นใย ความชื้น เถ้า วิตามินเอ ไอโอดีน และแป้ง ตามช่วงระยะเวลาที่กำหนด ตลอดปี

การวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารดังกล่าว ได้นำไปทดสอบและวิเคราะห์ผลที่ห้องปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย กรุงเทพมหานคร โดยวิเคราะห์สารอาหารจำพวกวิตามินเอ ไอโอดีนและแป้ง ส่วนสารอาหารจำพวก ไขมัน โปรตีน เส้นใย ความชื้น และเถ้า ได้นำไปทดสอบและวิเคราะห์ผลที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

เมื่อได้รับผลการทดสอบและวิเคราะห์สารอาหารจากสถาบันดังกล่าวข้างต้นแล้ว ได้นำผลมาวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารในแต่ละช่วงเวลามาหาความสัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อมในธรรมชาติ ตามวิธีของเปียสัน เพื่อหาความสัมพันธ์แบบธรรมดา (ถัวน สายยศ และอังคณา สายยศ 2540 : 166 - 173)

1. การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

การวิเคราะห์หาปริมาณ ไขมัน ใช้วัสดุอุปกรณ์และวิธีวิเคราะห์ดังนี้

1.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

(1) อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (soxhlet apparatus) ประกอบด้วยขวดกลม (สำหรับใส่ตัวทำละลาย) ซอกเลต (soxhlet) เครื่องควบแน่น (condenser) และเตาให้ความร้อน (heating mantle)

(2) หลอดใส่ตัวอย่าง (extraction thimble)

(3) สำลี

(4) ตู้อบไฟฟ้า

(5) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

(6) โถดูดความชื้น

(7) พิโตรเลียม อีเทอร์ หรือเฮกเซน (petroleum ether หรือ hexane)

1.2 วิธีวิเคราะห์ การวิเคราะห์หาปริมาณ ไขมันอาศัยวิธีการของ A.O.A.C , 1990 ตามลำดับขั้นตอน ดังนี้

(1) อบขวดกลมสำหรับหาปริมาณไขมัน ซึ่งมีขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้า ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

(2) ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักมา 5 กรัม ห่อให้มิดชิด ใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยสำลีเพื่อให้ตัวทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ

(3) นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในซอกเลต

(4) เติมตัวทำละลายปิโตรเลียม อีเทอร์ลงในขวดหาไขมัน ประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตาให้ความร้อน

(5) ประกอบอุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่น และเปิดสวิทซ์ให้ความร้อน

(6) ใช้เวลาในการสกัดไขมันนาน 14 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของตัวทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตราเร็ว 150 หยดต่อนาที

(7) เมื่อครบ 14 ชั่วโมงแล้ว นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอกเลต ทิ้งให้ตัวทำละลายไหลจากซอกเลตลงในขวดกลมจนหมด

(8) ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ

(9) นำขวดหาไขมันอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส จนแห้งใช้เวลาประมาณ 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

(10) ชั่งน้ำหนักแล้วอบซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักสองครั้งติดต่อกัน ไม่นเกิน 1-3 มิลลิลิตร

(11) คำนวณหาปริมาณไขมันจากสูตร

$$\text{ปริมาณไขมันคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก} = 100 \times \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

2. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ใช้วัสดุอุปกรณ์และวิธีวิเคราะห์ดังนี้

2.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

หลุดใส่ตัวอย่าง

(1) อุปกรณ์ย่อยโปรตีน ประกอบด้วยเตา (VELP DK 6) และ

(2) อุปกรณ์กลั่นโปรตีน

(3) ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร และขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร

(4) บีเปดต์ ขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร

(5) บิวเรตต์ ขนาด 25 มิลลิลิตร

(6) ลูกแก้ว (glass bead)

(7) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

(8) สารผสมระหว่างคอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO_4) และโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) อัตราส่วน 1 : 10

(9) กรดซัลฟิวริกเข้มข้น

(10) โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ร้อยละ 60

(11) กรดบอริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 4

(12) กรดเกลือที่มีความเข้มข้น 0.02 นอร์มัล

(13) อินดิเคเตอร์ (indicator) เป็นสารผสมระหว่างเมทิลเรด

เมทิลีนบลู และโบรไมครีซอลกรีน

2.2 วิธีวิเคราะห์ การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนอาศัยวิธีการของ A.O.A.C. 1990 ตามลำดับขั้นตอนดังนี้

(1) ขั้นตอนการย่อย

1) ชั่งตัวอย่างสาหร่ายน้ำหนักเปียก 15 กรัม ใส่งในหลอดย่อยโปรตีนและทำแบลนด์ด้วย

2) ใส่งสารผสม CuSO_4 และ K_2SO_4 ประมาณ 5 กรัม

3) เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาณ 20 มิลลิลิตร

4) วางหลอดย่อยในเตาย่อย แล้วประกอบสายยางระหว่างฝาครอบขวดใส่งและเครื่องดักจับไอกรดให้เรียบร้อย

5) เปิดสวิทช์เครื่อง scrubber และเตาย่อย แล้วตั้งอุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที จากนั้นปรับเพิ่ม อุณหภูมิเป็น 35 องศาเซลเซียส ย่อยต่ออีก 60 นาที จนใส่งสารละลายใส

6) ปล่อยทิ้งให้เย็น

7) นำมาถ่ายลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และใส่งน้ำกลั่นล้างหลอดย่อยให้หมดสารละลายตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้กลั่นต่อไป

(2) ขั้นตอนและการกลั่นและไทเทรต

1) จัดอุปกรณ์กลั่น แล้วเปิดสวิทช์ไฟและเปิดน้ำหล่อเย็นเครื่องควบแน่นด้วย

2) นำขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุกรดบอริก (เข้มข้นร้อยละ 4) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ซึ่งเติมอินดิเคเตอร์เรียบร้อยแล้ว ไปรองรับของเหลวที่จะกลั่น โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลาย

3) ดูดสารละลายตัวอย่างด้วยปิเปตต์แบบกระเปาะขนาด ความจุ 10 มิลลิลิตร ใส่งในช่องใส่งตัวอย่าง แล้วเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป 20 มิลลิลิตร

4) กลั่นประมาณ 10 นาที ล้างปลายอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ

5) ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรดเกลือที่มีความเข้มข้น 0.02 นอร์มัล ลิของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง

6) คำนวณหาปริมาณโปรตีนจากสูตร

$$\text{ปริมาณโปรตีนคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก} = \frac{(A-B)N \times 14.007 \times F}{W}$$

A = ปริมาตรกรดที่ใช้ไทเทรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรกรดที่ใช้ไทเทรตกับ blank (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของกรด (นอร์แมล)

F = แฟกเตอร์ (อาหารอื่น ๆ แฟกเตอร์ 6.25 : ที่มา FAO , 1986)

W = น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

3. การวิเคราะห์หาปริมาณเส้นใย

การวิเคราะห์หาปริมาณเส้นใย ใช้วัสดุอุปกรณ์และวิธีวิเคราะห์ดังนี้

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

(1) อุปกรณ์ชุดหาปริมาณสารเชื้อใย (Lab conco) ซึ่งประกอบด้วย บีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร อุปกรณ์ควบแน่นและอุปกรณ์ให้ความร้อน

(2) กระดาษกรอง เบอร์ 54

(3) ขวดกรองแบบสุญญากาศ (suction flask)

(4) กรวยกรอง (buchner funnel)

(5) ถ้วยกระเบื้องเคลือบ

(6) ตู้อบไฟฟ้า

(7) เตาเผา

(8) โถดูดความชื้น

(9) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

(10) กรดซัลฟิวริก เข้มข้นร้อยละ 1.25

(11) โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 1.25

(12) เอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95

3.2 วิธีกรวิเคราะห์ การวิเคราะห์หาปริมาณเส้นใย อาศัยวิธีการของ

A.O.A.C, 1990 ตามลำดับขั้นตอนดังนี้

(1) นำกระดาษกรองวางบนกระดาษฟิลา อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำออกมาใส่ในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนัก เก็บไว้ใช้กรองในขั้นต่อไป

(2) ชั่งตัวอย่างซึ่งผ่านการสกัดไขมันออกแล้ว ลงในบีกเกอร์ทรงสูงสำหรับวิเคราะห์สารเยื่อใย ขนาด 600 มิลลิลิตร

(3) เติมกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้น (ร้อยละ 1.25) ปริมาณ 200 มิลลิลิตร

(4) วางบีกเกอร์บนอุปกรณ์ให้ความร้อนซึ่งต่อเข้ากับอุปกรณ์ควบแน่น แล้วเปิดน้ำหล่อเครื่องควบแน่น พร้อมเปิดสวิทช์ไฟ

(5) คัมให้เดือดนาน 30 นาที

(6) กรองขณะร้อนผ่านกระดาษกรองที่ชั่งน้ำหนักแล้ว

(7) ล้างด้วยน้ำจนกระทั่งน้ำล้างหมดความเป็นกรด

(8) ถ่ายกากที่ได้ลงในบีกเกอร์ใบเดิม

(9) เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น (ร้อยละ 1.25) ปริมาณ 200 มิลลิลิตร

(10) วางบีกเกอร์บนอุปกรณ์ให้ความร้อนซึ่งต่อกับอุปกรณ์ควบแน่นเช่นเดิม และคัมต่ออีก 30 นาที

(11) กรองขณะร้อนผ่านกระดาษกรองแผ่นเดิม

(12) ล้างด้วยน้ำร้อนจนน้ำล้างหมดความเป็นด่าง

(13) ล้างด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ (ร้อยละ 95) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร

(14) นำกระดาษกรองพร้อมกากใส่ลงด้วยกระเบื้องเคลือบอบแห้งในตู้อบไฟฟ้า อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 3 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

(15) ชั่งน้ำหนักแล้วอบน้ำอีกครั้ง ๆ ละ 30 นาที จนกระทั่งได้ผลต่าง ๆ ของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

(16) นำด้วยกระเบื้องเคลือบพร้อมตัวอย่างที่อบแห้งแล้วไปเผาในเตาอุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วเผาซ้ำจนน้ำหนักคงที่

(17) คำนวณหาปริมาณเส้นใยจากสูตร

$$\text{ปริมาณเส้นใยคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก} = 100 \times \frac{\text{ผลต่างของ น.น. ตัวอย่างหลังอบและหลังเผา}}{\text{น.น. ตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

4. การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (น้ำ)

การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น ใช้วัสดุอุปกรณ์และวิธีวิเคราะห์ดังนี้

4.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

- (1) ภาชนะอลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น
- (2) ตู้อบไฟฟ้า (electric oven)
- (3) โถดูดความชื้น (desiccator)
- (4) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 3 ตำแหน่ง

4.2 วิธีการวิเคราะห์ การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นอาศัยวิธีการของ A.O.A.C. , 1990 ตามลำดับขั้นตอนดังนี้

- (1) อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งน้ำหนัก
- (2) กระทำเช่นข้อ (1) ซ้ำ จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
- (3) ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนอย่างละเอียดประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว
- (4) นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง
- (5) นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งน้ำหนัก
- (6) อบซ้ำอีก ครั้ง ละประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่าง ๆ ของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
- (7) คำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้นคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก} = 100 \times \frac{\text{ผลต่างของ น.น. ตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ}}{\text{น.น. ตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

5. การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า

การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า ใช้วัสดุอุปกรณ์และวิธีวิเคราะห์ดังนี้

5.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

- (1) เตาเผา (furnace)
- (2) ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
- (3) โถดูดความชื้น
- (4) เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดนิยม 4 ตำแหน่ง

5.2 วิธีการวิเคราะห์ การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าอาศัยวิธีการของ A.O.A.C.,1990. ตามลำดับขั้นตอนดังนี้

(1) เมาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ปิดสวิตซ์เตาเผา แล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาตกลงก่อน แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้นปล่อยให้เย็น แล้วชั่งน้ำหนัก

(2) เมาซ้ำอีกครั้งละประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

(3) ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนอย่างละเอียดประมาณ 1-2 กรัมใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว นำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผา ตั้งอุณหภูมิเตาเผาไว้ที่ 600 – 800 องศาเซลเซียส และกระทำเช่นเดียวกับ 1-2

(4) คำนวณหาปริมาณเถ้าจากสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้าคิดเป็นร้อยละ โดยน้ำหนัก} = 100 \times \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา}}{\text{น้ำหนัก ตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

6. การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินเอ

การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินเอ ใช้วัสดุอุปกรณ์และวิธีวิเคราะห์ดังนี้

6.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

- (1) ขวดกั้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร
- (2) ไฮโครควิโอน 0.1 กรัม

- (3) เอทานอล 95%
- (4) โปแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 50%
- (5) น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร
- (6) phenolphthalein 0.1%
- (7) เมทานอล
- (8) เครื่อง HPLC (High performance Liquid Chromatography)
- (9) ตัวอย่างสาหร่ายผสมนาง 50 กรัม

6.2 วิธีการวิเคราะห์ ซึ่งตัวอย่างสาหร่ายผสมนาง กราซิลาเรีย พืชเซอไร ประมาณ 50 กรัม ใส่ในขวดก้นกลม ขนาด 500 มิลลิลิตร เติม 0.1 กรัม ไฮโดรควิโนน เอทานอล (3-4 เท่าของน้ำหนักตัวอย่าง) 50% โปแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในน้ำ เติมเท่ากับน้ำหนักตัวอย่าง reflux ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที โดยใช้ magnetic stirrer คนตลอดเวลา หลังจาก saponification rinse condenser ด้วยน้ำ 20 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็นที่ 40 องศาเซลเซียส เทใส่ separating funnel สกัดด้วย n-hexane 100 มิลลิลิตร 2-3 ครั้ง สารละลายที่สกัดได้นำมารวมกันล้างด้วยน้ำจนหมดค้าง ทดสอบโดยการเติม 0.1% phenolphthalein กรองผ่าน sodium sulphate anhydrous นำไป evaporate นำกากไปละลายด้วย methanol กรองผ่าน 0.45 um ตรวจวัดด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ UV-detection ที่ 325 nm

7. การวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน

การวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน ใช้วัสดุอุปกรณ์และวิธีวิเคราะห์ดังนี้

7.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

- (1) pH/Ion Meter "Model 692 , Metrohm"
- (2) Dosimat with
- (3) Magnetic Stirrer
- (4) 10 ml Exchange Unit
- (5) Keypad
- (6) Connecting Cable
- (7) Iodide ISG with Cable

(8) Ag / AgCl Reference electrode with Cable

Inner eletrolyte : 3 m kcl

Bridge eletrolyte : 1 m KNO_3

(9) ISA Solution : (NaNO_3) = 5 mole / l

(10) Acetate buffer : 0.5 mole /l sodium acetate and 0.05 mole/l glacial acetic acid

(11) I^- standard solution : -0.1181 g NaI ละลายในน้ำกลั่น

ทำปริมาตรเป็น 1 ลิตร

7.2 การเตรียมตัวอย่าง

(1) ชั่งตัวอย่างสารหยาบผงนวง กราซีลาเรีย พีชเซอไร ที่บดละเอียดแล้ว 5 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 400 มิลลิลิตร

(2) เติมน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากันเท่าที่ทำได้

(3) นำไปให้ความร้อนจนกระทั่งอุณหภูมิถึง 90 องศาเซลเซียส (คนเป็นครั้งคราว) คงให้ความร้อนต่อไปอีกประมาณ 30 นาที

(4) นำมากรอง แล้วนำสารละลายที่ได้จากการกรองทำปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น (= สารละลายตัวอย่าง)

7.3 วิธีการวิเคราะห์

(1) ปิเปตต์ 20 มิลลิลิตร สารละลายตัวอย่าง เติม 1 มิลลิลิตร ISA Solution และ

(2) 1 ml Acetate buffer ใสลงในบีกเกอร์ขนาด 30 มิลลิลิตร

(3) ใส่ Magnetic bar (แท่งแม่เหล็กสำหรับคน)

(4) นำไปวัดค่า I^- โดย Iodide Ion Selective Electrode Method

หมายเหตุ

Type of Standard addition = Auto

ΔU \leq < 12 mv

No. of addition \leq 3

Standard Concentration (Cstd) : Sample Concentration (Cusmpl)

20 : 1 (สำหรับ 10 ml Exchange unit)

factor = 12.5

- ค่าที่อ่านได้ คือ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนในสารละลายตัวอย่าง
- วิธีการใช้เครื่อง pH / Ion Meter อ่านได้จากคู่มือที่มาพร้อมกับเครื่องหรือปรึกษากับ

บริษัทที่ซื้อ

8. การวิเคราะห์หาปริมาณแอมป์

การวิเคราะห์หาปริมาณแอมป์ ใช้วัสดุอุปกรณ์และวิธีวิเคราะห์ดังนี้

8.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

- (1) กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น
- (2) 50% NaOH
- (3) Fehling solution
- (4) 1% เมทิลีนบลู

8.2 วิธีการเตรียมตัวอย่าง นำสาหร่ายผมนาง กราซีลาเรีย พืชเซอไร ที่ได้จากการอบแห้งแล้วนำมาปั่นจนได้เป็นผงละเอียด จากนั้นนำมาทำการวิเคราะห์

8.3 วิธีการวิเคราะห์

- (1) ชั่งตัวอย่างที่ได้จากการปั่นให้ละเอียดแล้ว 205 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
- (2) เติมน้ำกลั่นลงไป 100-150 มิลลิลิตร แล้วใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากัน
- (3) เติม 20 มิลลิลิตร กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น แล้วคนให้เข้ากัน จากนั้นนำไปทำการรีฟลักซ์เป็นเวลา 4 ชั่วโมง
- (4) จากนั้นนำไปปรับพีเอชให้อยู่ในสภาพที่เป็นกลางโดยใช้ 50% NaOH
- (5) ถ่ายให้ขวดวัดปริมาตรขนาด 200 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ได้ด้วยน้ำกลั่น
- (6) นำไปกรอง

(7) นำสารละลายที่ได้จากการกรองแล้วไปไทเทรตกับ Fehling solution โดยใช้ 1% Methylene Blue เป็นอินดิเคเตอร์

(8) นำไปคำนวณผลด้วยแฟคเตอร์ 0.90 ค่าที่ได้คือ แป้ง

ตอนที่ 3 ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณของสารอาหารในสาหร่ายผสมนาง

กราซิลารีเรีย ฟิชเชอไร ที่ต่างนิเวศวิทยาและต่างระยะเวลา

ในแต่ละช่วงเวลาที่เก็บมาศึกษาวิจัย

การศึกษเปรียบเทียบปริมาณของสารอาหารในสาหร่ายผสมนาง กราซิลารีเรีย ฟิชเชอไร ที่ต่างนิเวศวิทยา และต่างระยะเวลาในแต่ละช่วงเวลาที่เก็บมาศึกษาวิจัย ดังนี้

1. วิเคราะห์เปรียบเทียบคุณค่าอาหารของสาหร่ายผสมนางทั้ง 3 ตำบล

การวิเคราะห์เปรียบเทียบคุณค่าอาหารของสาหร่ายผสมนางทั้ง 3 ตำบล คือ ตำบลเกาะชอ ตำบลสทิงหม้อ และตำบลหัวเขา โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ซึ่งเป็นการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสารอาหารในสาหร่ายผสมนาง กราซิลารีเรีย ฟิชเชอไร ตอนนอก

สำหรับข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์ความแปรปรวนได้จากแผนแบบการทดลองที่เรียกว่า แผนแบบสุ่มโดยสมบูรณ์ (completely randomized design : CRD) ซึ่งเป็นแผนแบบการทดลองที่เปรียบเทียบโดยตัวอย่างแต่ละกลุ่มเป็นอิสระกัน (อมรรัตน์ แมกไม้รักษา 2543 : 158)

ผลของความแปรปรวนที่แยกตามแหล่งต่าง ๆ และค่าสถิติการทดสอบ จำแนกตามช่วงระยะเวลาตลอดปี และจำแนกตามตำบล โดยใช้สูตรคำนวณต่อไปนี้

เพื่อความสะดวกในการคำนวณจึงแปลค่า SST, SST_r และ SSE ดังนี้

$$1. C.F. = \frac{T^2}{n} ; \text{ให้ } n = \sum_{i=1}^k n_i$$

$$2. SST = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{X})^2 \text{ โดย } \bar{X} = \frac{T}{n}$$

$$= \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} x_{ij}^2 - C.F. \quad d.f = n - 1$$

$$3. SStr = \sum_{i=1}^k n_i (\bar{X}_i - \bar{X})^2$$

$$= \sum_{i=1}^k \frac{T_i^2}{n_i} - C.F. \quad d.f = k - 1$$

$$4. SSE = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (X_{ij} - \bar{X}_i)^2$$

$$= SST - SStr \quad d.f. = n - k$$

$$5. MStr = \frac{SSTr}{k - 1}$$

$$6. MSE = \frac{SSE}{n - k}$$

$$7. \text{ค่าสถิติการทดสอบ คือ } F = \frac{MStr}{MSE}$$

ผลของความแปรปรวนที่แยกตามแหล่งต่าง ๆ และค่าสถิติการทดสอบ นำมาเขียนสรุป เป็นตาราง เรียกว่า ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวน ดังนี้

แหล่งความแปรปรวน	d.f.	SS	MS	F
ระหว่างกลุ่ม	k-1	SSTr	MStr	$\frac{MStr}{MSE}$
ภายในกลุ่ม	n-k	SSE	MSE	
ทั้งหมด	n-1	SST		

2. วิเคราะห์เปรียบเทียบความแปรปรวนพหุคูณ

การวิเคราะห์เปรียบเทียบความแปรปรวนพหุคูณ ทดสอบความมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ย กลุ่มตัวอย่างที่ละคู่ พร้อม ๆ กัน โดยวิธีการค้นแคน โดยใช้สูตรคำนวณดังนี้ (อมรรัตน์ แมกไม้รักษา 2543 : 173)

$$R_p = r_p \sqrt{\frac{MSE}{N_i}}$$

โดยที่ r_p เป็นค่าที่ได้จากพิสัยนัยสำคัญน้อยที่สุด (least significant range)

ขั้นตอนการทดสอบของค้นแคน

1. เรียงลำดับค่าเฉลี่ย \bar{X}_i จากน้อยไปมากแล้วคำนวณค่า

$$|\bar{X}_i - \bar{X}_j| : i \neq j$$

2. คำนวณค่า $R_p = r_p \sqrt{\frac{MSE}{N_i}}$

3. ค่าที่ได้ในขั้นตอนที่ 1 มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับค่า R_p ที่คำนวณได้ในขั้นตอนที่ 2 แสดงว่าค่าเฉลี่ยกลุ่มตัวอย่างคู่ นั้นแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญที่ .05

3. วิเคราะห์คุณค่าทางอาหารในแต่ละพื้นที่และแต่ละช่วงระยะเวลา

การวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารในแต่ละพื้นที่และแต่ละช่วงระยะเวลามาหาความสัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อมในธรรมชาติ ตามวิธีของเปียสัน เพื่อหาสัมพัทธ์แบบธรรมดา โดยใช้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (ถ้วน สายยศ และอังคณา สายยศ 2540 : 166-173)

การคำนวณหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ใช้สูตรดังนี้

$$r = \frac{\sum Z_x Z_y}{N} \dots\dots\dots (1)$$

วิธีหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r)

เมื่อได้ข้อมูล x และ y มาแล้ว เอาข้อมูล x , y หาคะแนนมาตรฐาน Z_x , Z_y แล้วจับคู่กันเป็นคู่ ๆ เมื่อหมดแล้วเอาผลคูณที่ได้จากแต่ละคู่มารวมกัน แล้วหารด้วย (N) ซึ่งก็คือจำนวนคู่ นั้นเอง กรณีกลุ่มตัวอย่างน้อย ๆ ใ้ N - 1 เป็นตัวหาร

สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) มีค่าอยู่ระหว่าง -1 ถึง +1 เท่านั้น

ถ้าข้อมูลคำนวณหา r เป็นลบ ถือว่ามีสหสัมพันธ์เหมือนกัน แต่เป็นความสัมพันธ์กลับ (inverse relationship) ถ้าข้อมูลคำนวณ r เป็นบวก ถือว่าข้อมูลสัมพันธ์กันโดยตรง (direct relationship)

หรือจะใช้สูตร (2)

$$r = \frac{\sum xy}{\sqrt{\sum x^2 \sum y^2}} \dots\dots\dots (2)$$

- เมื่อ x คือค่าเบี่ยงเบน $(x - \bar{x})$ ของค่าชุด x
 - y คือค่าเบี่ยงเบน $(y - \bar{y})$ ของค่าชุด y
 - r คือสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ระหว่างค่า x , y
- หรือจากสูตร (2) ถ้าแปลงให้เป็นสูตรที่ใช้ค่าคะแนนดิบแทนค่าเลขก็ได้

$$r = \frac{N\sum xy - \sum x\sum y}{\sqrt{\{N\sum x^2 - (\sum x)^2\}\{N\sum y^2 - (\sum y)^2\}}} \dots\dots\dots (3)$$

- เมื่อ N เป็นจำนวนสิ่งทีศึกษา
- $\sum x$ เป็นผลรวมทั้งหมดของคะแนนดิบ x
- $\sum y$ เป็นผลรวมทั้งหมดของคะแนนดิบ y
- $\sum x^2$ เป็นผลรวมของคะแนนดิบ x แต่ละตัวยกกำลังสอง
- $\sum y^2$ เป็นผลรวมทั้งหมดของคะแนนดิบ y แต่ละตัวยกกำลังสอง
- $\sum xy$ เป็นผลรวมทั้งหมดของคะแนนดิบ x และ y คูณกันแต่ละคู่

หมายเหตุ สูตร (3) นิยมใช้กันมากที่สุด ถูกต้องที่สุด ใช้ได้ทั้งข้อมูลที่เป็นประชากรหรือกลุ่มตัวอย่างของตัวเลขที่นำมาใช้มีอยู่ 5 ยอดที่สำคัญ เมื่อสามารถหายอดทั้ง 5 ได้แล้ว วิธีการที่จะคำนวณหา (r) ใช้สูตรที่ 3 ได้ทันที

