สำนักวิทยบริการ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
HS... Resources Center

บทที่ 3

วิธีดำเนินการศึกษาวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้แบ่งออกเป็น 3 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 ศึกษาสัณฐานวิทยา (Morphology) และนิเวศวิทยา (Ecology) ของสาหร่ายผมนาง **กราซิลาเรีย ฟิชเชอไร** ณ จุดเก็บที่กำหนด

ตอนที่ 2 วิเคราะห์ปริมาณสารอาหารของสาหร่ายผมนาง **กราซิลาเรีย ฟิชเชอไร** ที่เก็บจากพื้นที่ที่กำหนดบริเวณชายฝั่งทะเลสบสงขลาตอนนอก

ตอนที่ 3 ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณของสารอาหารในสาหร่ายผมนาง **กราซิลาเรีย ฟิชเชอไร** ช่วงฤดูฝนและฤดูร้อน

ตอนที่ 1

ศึกษาสัณฐานวิทยา (Morphology) และนิเวศวิทยา (Ecology) ของสาหร่ายผมนาง **กราซิลาเรีย ฟิชเชอไร** บริเวณพื้นที่กำหนดจุดเก็บ บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก

1. อุปกรณ์ที่ใช้ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาด้านสัณฐานวิทยา

1.1 กล้องจุลทรรศน์

1.2 สไลด์และกระจกปิดสไลด์

1.3 Ocular micrometer และ Stage

1.4 ใบมีดโกน

1.5 เข็มเขี่ย

1.6 ปากคีบ

1.7 ไม้โปรแทรคเตอร์และไม้บรรทัดเหล็ก

1.8 กล้องถ่ายรูป Nikon รุ่น FM - 2

1.9 ฟิล์มถ่ายรูป Kodak Gold 200

1.10 ไมโครมิเตอร์

589.3
ส๔๙ก
113710
- 6 พ.ย. 2544

2. อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์คุณภาพน้ำทะเล

2.1 เทอร์มอมิเตอร์ ใช้สำหรับวัดอุณหภูมิของน้ำ

2.2 Water checher U - 10 ใช้สำหรับวัดค่า พีเอช (pH) ความเค็ม (Salinity) และ ความขุ่น (Turbidity) ของน้ำ

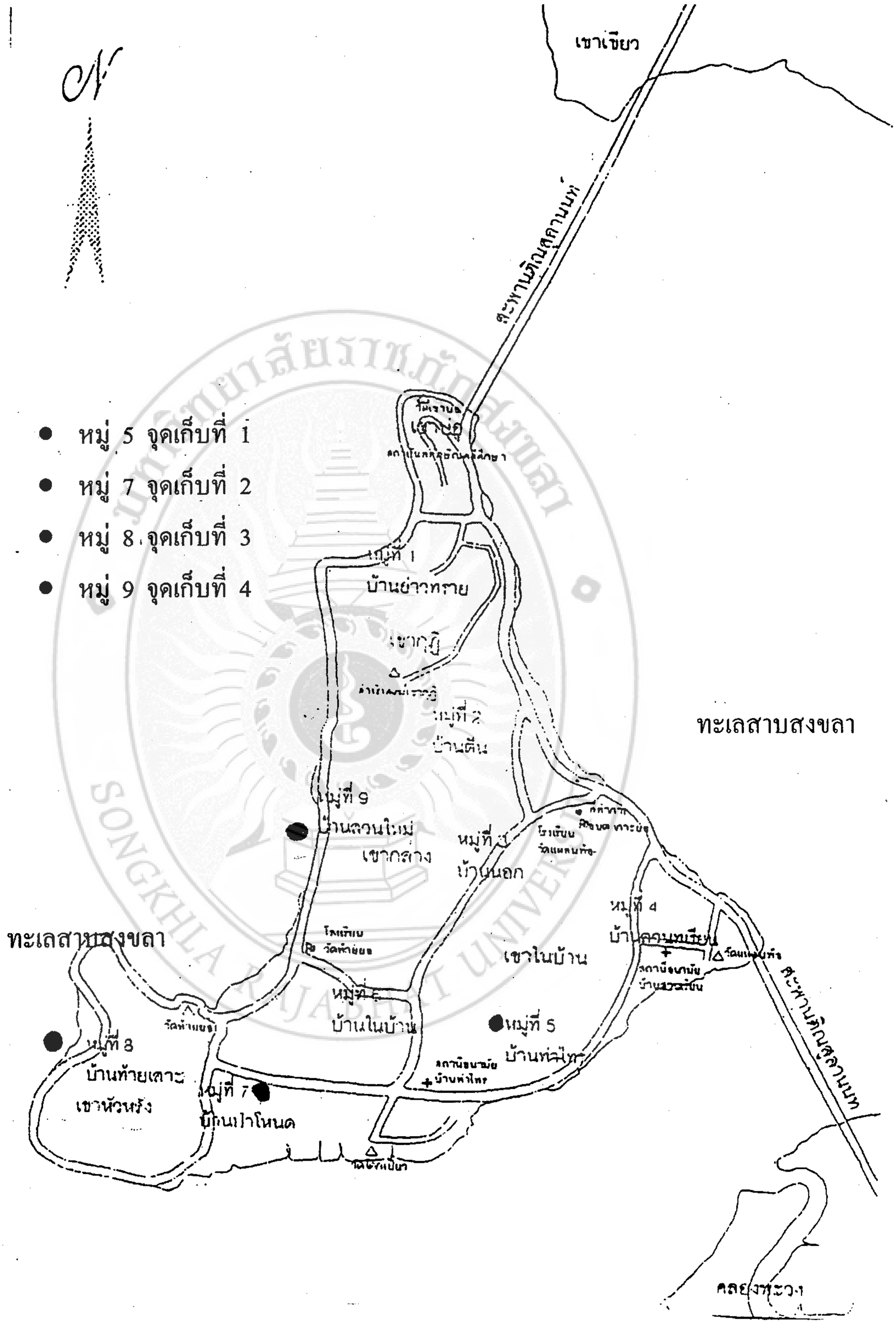
2.3 Secchi disc ใช้วัดความโปร่งแสงของน้ำ และใช้วัดความลึกของระดับน้ำทะเล

2.4 ขวดน้ำพลาสติคบรรจุตัวอย่างน้ำ ความจุ 2 ลิตร

2.5 ตลับเทปวัดความยาวหน่วยเป็นเมตร

3. กำหนดจุดเก็บตัวอย่าง

สาหร่ายผมนาง **กราซิลาเรีย ฟิชเชอไร** ที่เก็บรวบรวมจากบริเวณชายฝั่งทะเลสาบสงขลาตอนนอก โดยวิธีการกำหนดพื้นที่ ดังนี้ (ภาพที่ 3.1 - 3.2)



- หมู่ 5 จุดเก็บที่ 1
- หมู่ 7 จุดเก็บที่ 2
- หมู่ 8 จุดเก็บที่ 3
- หมู่ 9 จุดเก็บที่ 4

ภาพที่ 3.1 แสดงพื้นที่จุดเก็บตัวอย่าง ตำบลเกาะยอ อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา

ภาพที่ 3.2 แสดงพื้นที่จุดเก็บตัวอย่าง ตำบลสทิงหม้อ และตำบลหัวเขา อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา

3.1 ตำบลเกาะยอ อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา

3.2 ตำบลสทิงหม้อ อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา

3.3 ตำบลหัวเขา อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา

จุดเก็บตัวอย่างสาหร่ายผมนาง **กราซิลาเรีย ฟิชเชอไร** ทั้ง 3 จุดนั้น ผู้วิจัยได้สำรวจแล้วพบว่ามีสาหร่ายผมนางมากพอสมควรที่จะเก็บตัวอย่างมาศึกษาและวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารในช่วงฤดูฝนและฤดูร้อน

วิธีดำเนินการศึกษาวิจัย

1. ศึกษาด้านสัณฐานวิทยา (Morphology) ของสาหร่ายผมนางจากจุดเก็บตัวอย่างนำมาศึกษาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏสงขลา โดยศึกษาจากกล้องจุลทรรศน์ แว่นขยาย ถ่ายภาพสาหร่ายแต่ละจุดเก็บ วัดความยาว ความกว้าง (เส้นผ่าศูนย์กลาง) การแตกแขนงสาขาของทัลลัส วัดความยาวของโฮลด์ฟาสท์ บันทึกข้อมูลในรูปตารางแต่ละจุดเก็บ

การวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของทัลลัส

วัสดุอุปกรณ์

ไมโครมิเตอร์ (Micrometer)

วิธีการวัด

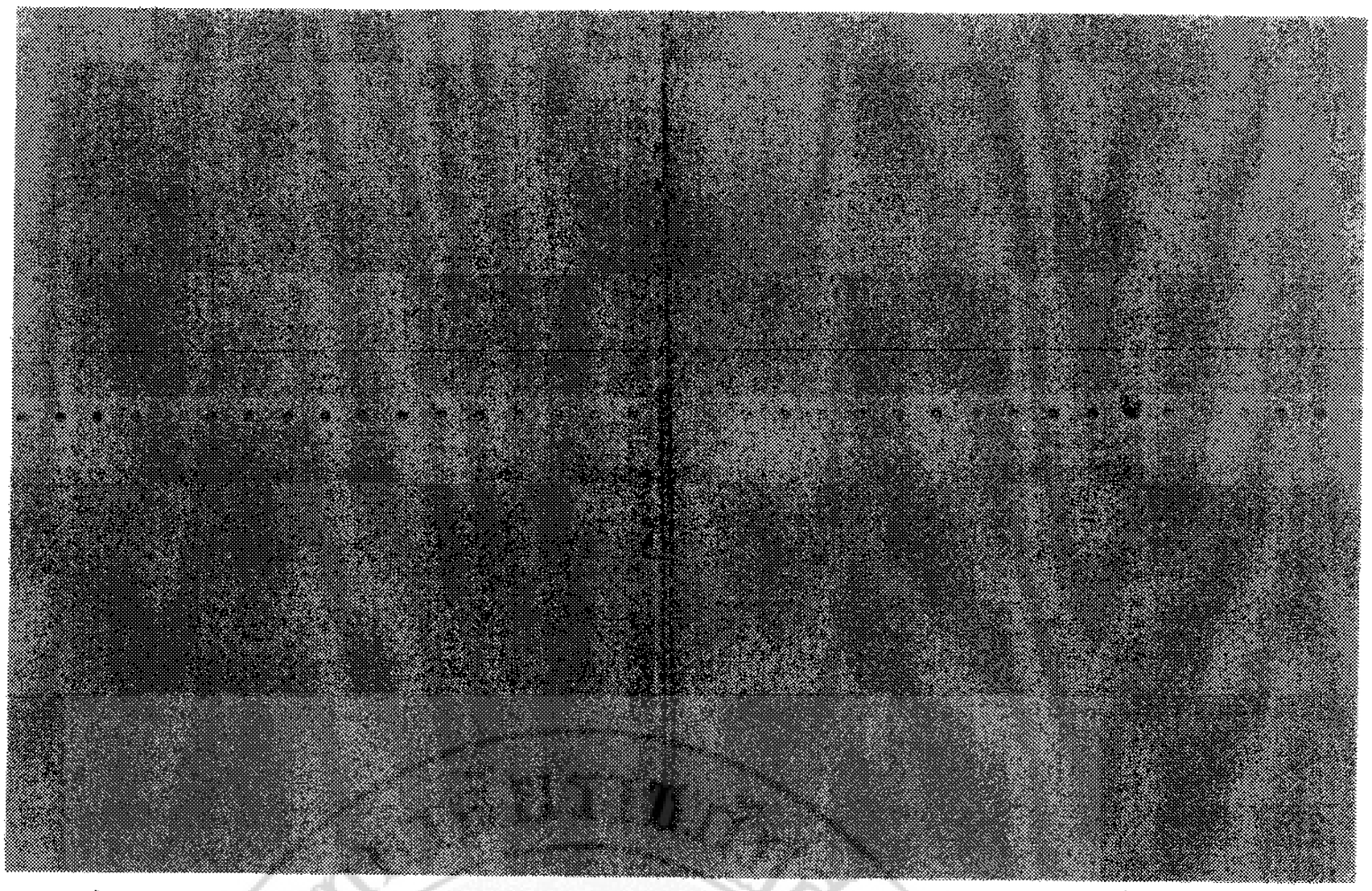
1. นำสาหร่ายวางไว้ที่ปากวัดของไมโครมิเตอร์
2. ปรับปุ่มหยาบให้เข้าใกล้วัตถุ
3. ปรับปุ่มละเอียดจนกว่าจะได้ยินเสียง “แกร็ก” 1 ครั้ง
4. นำสาหร่ายออกจากปากวัด อ่านค่าที่ได้แล้วบันทึกผลคลาย

สกรู

ดังภาพที่ 3.3

ภาพที่ 3.3 ไมโครมิเตอร์ ใช้วัดเส้นผ่าศูนย์กลางสาหร่ายผมนาง **กราซิลาเรีย ฟิชเชอไร**

ภาพที่ 3.4 ขวดเก็บตัวอย่างน้ำ ขนาด 2 ลิตร



ภาพที่ 3.5 เทอร์โมมิเตอร์ แบบเซลเซียส ใช้ในการวัดอุณหภูมิของน้ำ

การบันทึกภาพสาหร่ายผมนางกราซิลาเรีย ฟิชเชอไร

ถ่ายภาพกับกล้องถ่ายภาพ Nikon รุ่น FM - 2 ขยายภาพด้วยเลนส์ถ่ายใกล้ตา (close up lens) เบอร์ 1 - 4 โดยใช้กระดาษแข็งสีขาวเทารองรับสาหร่าย วางไม้บรรทัดไว้ข้าง ๆ ตั้งกล้องบนขาตั้ง เพื่อป้องกันการสั่นไหว

การเก็บรวบรวมตัวอย่างสาหร่ายที่วินิจฉัยเสร็จแล้ว เพื่อการศึกษาต่อไป โดยเลือกสาหร่ายที่สมบูรณ์ ล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งให้สะเด็ดน้ำ แล้วดองด้วยแอลกอฮอล์ 40%

2. การศึกษาสภาพนิเวศ (Ecology) บางประการที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายผมนาง **กราซิลาเรีย ฟิชเชอไร** ณ จุดเก็บที่กำหนดโดยนำน้ำมาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ศูนย์อนามัยสิ่งแวดล้อม เขต 12 อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา

การเก็บตัวอย่างน้ำ โดยใช้วิธีที่เรียกว่า การเก็บแบบตัวอย่างแยก (Grab sampling)

อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างน้ำ

1. ขวดเก็บตัวอย่างน้ำขนาด 2 ลิตร
2. เทปกาวติดข้างขวดเพื่อบอกจุดเก็บตัวอย่างน้ำที่เก็บจากจุดเก็บ จะนำไปหาค่าพารามิเตอร์ดังนี้

วิธีการหาค่าอุณหภูมิ

วัสดุอุปกรณ์

เทอร์มอมิเตอร์ แบบองศาเซลเซียส

วิธีการวัด

1. เลือกเทอร์มอมิเตอร์ที่มีช่วงอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดให้เหมาะสม
2. นำเทอร์มอมิเตอร์จุ่มลงไปในน้ำ
3. ใช้ที่จับหลอดทดลอง จับเทอร์ทอมิเตอร์ให้ตั้งตรงหรืออาจใช้นิ้วจับเพียงส่วนปลายบนของเทอร์มอมิเตอร์
4. ในการอ่านอุณหภูมิ ต้องให้สายตาอยู่ในระดับเดียวกับของเหลวในเทอร์มอมิเตอร์
5. เมื่อใช้เสร็จแล้วทำความสะอาด เช็ดให้แห้งและเก็บใส่กล่องให้เรียบร้อย

วิธีการหาค่ากรด - ด่าง (pH) และความขุ่นของน้ำ

วัสดุอุปกรณ์

Water Checher U - 10

วิธีการวัด

ก่อนอื่นต้อง Set เครื่องด้วย 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 3.6)

ภาพที่ 3.6 แสดงภาพวอเตอร์ เซคเกอร์ ยู – 10 ใช้ในการหาค่าความเป็นกรด – ด่าง , ความลึกและความขุ่น

วิธีการหาค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen, D.O)

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. ขวด B.O.D ขนาด 300 มิลลิลิตร พร้อมจุกปิดขวด
2. ฟลาสแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร
3. ปิเปต ขนาด 10 มิลลิลิตร
4. ขวดแก้ววัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร
5. ลูกยาง
6. เครื่องมือติเตรตอัตโนมัติ
7. Alkali - Iodide - Azide Solution ($Mn\ SO_4 .H_2O$)
8. Manganese sulfate Solution ($NaOH + NaI + NaN_3$)
9. กรดซัลฟูริกเข้มข้น ($Conc.H_2SO_4$)
10. น้ำแป้ง (starch Solution)
11. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต($Na_2S_2O_3$). 025N
12. น้ำกลั่น

วิธีการวิเคราะห์

1. นำน้ำตัวอย่างในขวด B.O.D ขนาด 300 มิลลิลิตร จากจุดเก็บตัวอย่าง

2. เติมสารละลายแมงกานีสซัลเฟต 1 มิลลิลิตร และอัลคาไลด์ไอโอไดร์เอไซด์ 1 มิลลิลิตร ลงในขวด B.O.D ที่บรรจุน้ำตัวอย่าง ปิดจุกขวดไม่ให้เกิดฟองอากาศ คว่ำขวดขึ้นลง 15 ครั้ง เพื่อให้สารเคมีผสมกับน้ำตัวอย่าง

3. ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนจนได้ปริมาณน้ำใส $\frac{1}{2}$ ของขวด B.O.D

4. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร นำไปติเตรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.025 N จนกระทั่งสารละลายมีสีเหลืองอ่อน เติมน้ำแป้ง 1 มิลลิลิตรจะได้สารละลายสีน้ำเงินเข้ม ติเตรตต่อไปจนกระทั่งสีน้ำเงินหายไป ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 1 มิลลิลิตรมีค่าเท่ากับออกซิเจนละลาย 1 มิลลิกรัม/ลิตร

การคำนวณออกซิเจนละลายในน้ำ

ปริมาณออกซิเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร) = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต (มิลลิลิตร)

ภาพที่ 3.7 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการไตเตรต หาค่าออกซิเจนละลายในน้ำ

วิธีการหาความเข้มแสงและความลึกของน้ำ

วัสดุอุปกรณ์

Secchi disc ตลับเมตร

วิธีการวัด

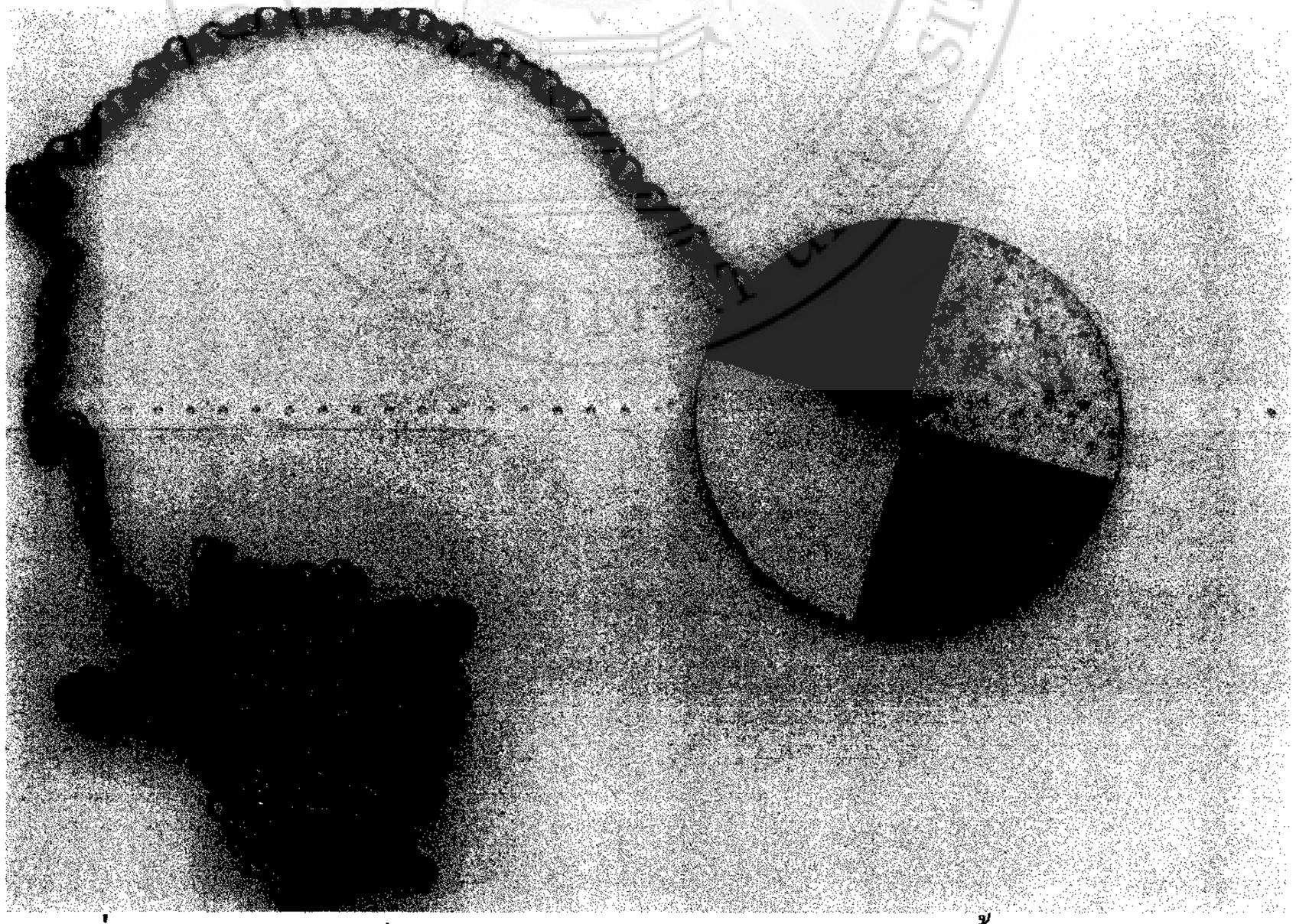
1. นำ Secchi disc หย่อนลงไปในน้ำเรื่อย ๆ จนกระทั่งมองไม่เห็นสีบน Secchi disc

2. ทำเครื่องหมายส่วนบนสุดของเชือก Secchi disc

3. วัดความยาวเชือกด้วยตลับเมตรจากตัวอย่าง Secchi disc จนถึงส่วนบนสุดที่ทำเครื่องหมายไว้

ถ้าเป็นการหาความเข้มแสง จะต้องหย่อนตัว Secchi disc ลงไปให้ลึกที่สุดเท่าที่ยังสามารถมองเห็นตัว Secchi disc ทำเครื่องหมายที่เส้นเชือกบริเวณผิวน้ำ นำมาวัดหาค่าความลึก จดบันทึกค่าที่ได้ หน่วยเป็นเซนติเมตร

ถ้าเป็นการหาความลึกของน้ำ โดยการหย่อนตัว Secchi disc ลงไปบริเวณที่วัดความเข้มแสงจนตัว Secchi disc ถึงพื้นดิน ทำเครื่องหมายเชือกบริเวณผิวน้ำไว้ นำมาวัดหาความลึก จดบันทึกค่าที่ได้ หน่วยเป็นเซนติเมตร



ภาพที่ 3.8 เซคซิคิดิสซ์ ใช้วัดความเข้มแสง และความลึกของน้ำ

วิธีการหาความเค็มของน้ำ

วัสดุอุปกรณ์

Water Checher U - 10

วิธีการวัด

1. กดปุ่ม “Mode” แล้วกดปุ่ม Maintionnance state (ซึ่งจะมีอักษร Maint ปรากฏอยู่ที่มุมบนด้านซ้ายของหน้าจอ)
2. กดปุ่ม “Mode” เพื่อเลื่อน Cursor ไปที่ S.set
3. กดปุ่ม △ หรือ ▽ เพื่อตั้งค่าความเค็มโดยน้ำจืด ตั้งค่าไว้ที่ “0” % น้ำเค็มตั้งค่าไว้ที่ “0 – 4 %” แต่ถ้าไม่ทราบค่าให้ตั้งค่าไว้ที่ “A”
4. กดปุ่ม “ENT” เพื่อบันทึกค่าที่ Set ได้
5. กดปุ่ม “Mode” กลับไปที่ “Meas” เพื่อทำการวัดต่อไป

ตอนที่ 2

วิเคราะห์ปริมาณสารอาหารสาหร่ายผมนาง **กราซิลาเรีย ฟิชเชอไร** ที่เก็บจากพื้นที่ที่กำหนด 3 ตำบล คือ ตำบลเกาะยอ ตำบลสทิงหม้อ และตำบลหัวเขา บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก โดยวิเคราะห์คุณค่าอาหารด้านไขมัน โปรตีน เส้นใย ความชื้น เถ้า วิตามินเอ ไอโอดีน และแป้ง (starch) ทั้ง 2 ฤดูกาล คือ ฤดูฝนและฤดูร้อน

การวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารดังกล่าว ได้นำไปทดสอบและวิเคราะห์ผลที่ห้องปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย กรุงเทพมหานคร โดยวิเคราะห์สารอาหารจำพวกวิตามินเอ ไอโอดีนและแป้ง (Starch) ส่วนสารอาหารจำพวก ไขมัน โปรตีน เส้นใย ความชื้น (น้ำ) และเถ้า ได้นำไปทดสอบและวิเคราะห์ผลที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตเทศบาลนครหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

เมื่อได้รับผลการทดสอบและวิเคราะห์สารอาหารจากสถาบันดังกล่าวข้างต้นแล้ว ได้นำผลมาวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารในแต่ละฤดูกาลมาหาความสัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อมในธรรมชาต ตามวิธีของเปียสัน (Peason’s Correlation) เพื่อหาสัมพันธ์แบบธรรมดา (Simple Correlation) (รำไพ สุขสวัสดิ์ ณ อยุธยา , 2535)

การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (soxhlet apparatus) ประกอบด้วย ขวดกลม (สำหรับใส่ตัวทำละลาย) ซอคเลต (soxhlet) เครื่องควบแน่น (condenser) และเตาให้ความร้อน (heating mantle) ดังภาพที่ 3

2. หลอดใส่ตัวอย่าง (extraction thimble)

3. สำลี

4. ตู้อบไฟฟ้า

5. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

6. โถดูดความชื้น

7. ปิโตรเลียม อีเทอร์ หรือเฮกเซน (pretoleum ether หรือ hexane)

วิธีการวิเคราะห์

การวิเคราะห์หาปริมาณไขมันอาศัยวิธีการของ A.O.A.C , 1990 ตามลำดับขั้นตอนดังนี้

1. อบขวดกลมสำหรับหาปริมาณไขมัน ซึ่งมีขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้า ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

2. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักมา 5 กรัม ห่อให้มิดชิด ใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยสำลีเพื่อให้ตัวทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ

3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในซอคเลต

4. เติมตัวทำละลายปิโตรเลียม อีเทอร์ลงในขวดหาไขมันประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตาให้ความร้อน

5. ประกอบอุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่น และเปิดสวิทซ์ให้ความร้อน

6. ใช้เวลาในการสกัดไขมันนาน 14 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของตัวทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตราเร็ว 150 หยดต่อนาที

7. เมื่อครบ 14 ชั่วโมงแล้ว นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอคเลต ทิ้งให้ตัวทำละลายไหลจากซอคเลตลงในขวดกลมจนหมด

8. ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ

9. นำขวดหาไขมันอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80 - 90 องศาเซลเซียส จนแห้งใช้เวลาประมาณ 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

10. ชั่งน้ำหนักแล้วอบซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักสองครั้งติดต่อกัน ไม่เกิน 1 - 3 มิลลิกรัม

11. คำนวณหาปริมาณไขมันจากสูตร

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

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. อุปกรณ์ย่อยโปรตีน ประกอบด้วยเตา (VELP DK 6) และหลอดใส่ตัวอย่าง

2. อุปกรณ์กลั่นโปรตีน

3. ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร และขวดปรับปริมาตร (volumnetrio flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร

4. ปิเปต ขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร

5. บูเรตต์ ขนาด 25 มิลลิลิตร

6. ลูกแก้ว (glass bead)

7. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

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

9. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Conc. H_2SO_4)

10. โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ร้อยละ 60

11. กรดบอริคที่มีความเข้มข้นร้อยละ 4

12. กรดเกลือที่มีความเข้มข้น 0.02 นอร์มาล

13. อินดิเคเตอร์ (indicator) เป็นสารผสมระหว่างเมทิลเรด

เมทิลีนบลู และโบรไมครีซอลกรีน

วิธีวิเคราะห์

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนอาศัยวิธีการของ A.O.A.C, 1990 ตามลำดับขั้นตอนดังนี้

1. ขั้นตอนการย่อย

1. ชั่งตัวอย่างสาหร่ายน้ำหนักเปียก 15 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีนและทำแบลงค์ด้วย

2. ใส่สารผสม $CuSO_4$ และ K_2SO_4 ประมาณ 5 กรัม

3. เติมกรดซัลฟูริคเข้มข้น ปริมาณ 20 มิลลิลิตร

4. วางหลอดย่อยในเตาย่อยแล้วประกอบสายยางระหว่างฝาครอบขวดใส่ด่างและเครื่องดักจับไอกรดให้เรียบร้อย

5. เปิดสวิทซ์เครื่อง scrubber และเตาย่อย แล้วตั้งอุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที จากนั้นปรับเพิ่ม อุณหภูมิเป็น 35 องศาเซลเซียส ย่อยต่ออีก 60 นาที จนได้สารละลายใส

6. ปล่อยทิ้งให้เย็น

7. นำมาถ่ายลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และใช้น้ำกลั่นล้างหลอดย่อยให้หมดสารละลายตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้กลั่นต่อไป

2. ขั้นตอนการกลั่นและไตเตรต

1. จัดอุปกรณ์กลั่น แล้วเปิดสวิทซ์ไฟ และเปิดน้ำหล่อเย็นเครื่องควบแน่นด้วย

2. นำขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุกรดบอริค (เข้มข้นร้อยละ 4) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ซึ่งเติมอินดิเคเตอร์เรียบร้อยแล้วไปรองรับของเหลวที่จะกลั่นโดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลาย

3. ดูดสารละลายตัวอย่างด้วยปิเปตแบบกระเปาะขนาดความจุ 10 มิลลิลิตรใส่ลงในช่องใส่ตัวอย่าง แล้วเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป 20 มิลลิลิตร

4. กลั่นประมาณ 10 นาที ล้างปลายอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ

5. ไตเตรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรดเกลือที่มีความเข้มข้น0.02นอร์มาล สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง

6. คำนวณหาปริมาณโปรตีนจากสูตร

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

A = ปริมาตรกรดที่ใช้ไตเตรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรกรดที่ใช้ไตเตรตกับ blank (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของกรด (นอร์มาล)

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

W = น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

การวิเคราะห์หาปริมาณเส้นใย

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. อุปกรณ์ชุดหาปริมาณสารเยื่อใย (Lab conco) ซึ่งประกอบด้วยบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร อุปกรณ์ควบแน่นและอุปกรณ์ให้ความร้อน
2. กระดาษกรอง เบอร์ 54
3. ขวดกรองแบบสูญญากาศ (suction flask)
4. กรวยกรอง (buchner funnel)
5. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ
6. ตู้อบไฟฟ้า
7. เตาเผา
8. โถดูดความชื้น
9. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
10. กรดซัลฟูริค เข้มข้นร้อยละ 1.25
11. โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 1.25
12. เอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95

วิธีการวิเคราะห์

การวิเคราะห์หาปริมาณเส้นใย อาศัยวิธีการของ A.O.AC, 1990 ตามลำดับขั้นตอนดังนี้

1. นำกระดาษกรองวางบนกระจกนาฬิกา อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำออกมาใส่ในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนัก เก็บไว้ใช้กรองในขั้นต่อไป

2. ชั่งตัวอย่างซึ่งผ่านการสกัดไขมันออกแล้ว ลงในบีกเกอร์ทรงสูงสำหรับวิเคราะห์สารเยื่อใย ขนาด 600 มิลลิลิตร

3. เติมกรดซัลฟูริคที่มีความเข้มข้น (ร้อยละ 1.25) ปริมาณ 200 มิลลิลิตร

4. วางบีกเกอร์บนอุปกรณ์ให้ความร้อนซึ่งต่อเข้ากับอุปกรณ์ควบแน่น แล้วเปิดน้ำหล่อเครื่องควบแน่น พร้อมเปิดสวิทซ์ไฟ

5. ต้มให้เดือดนาน 30 นาที

6. กรองขณะร้อนผ่านกระดาษกรองที่ชั่งน้ำหนักแล้ว

7. ล้างด้วยน้ำร้อนจนกระทั่งน้ำล้างหมดความเป็นกรด

8. ถ่ายกากที่ได้ลงในบีกเกอร์ใบเดิม

9. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น (ร้อยละ 1.25) ปริมาณ 200 มิลลิลิตร

10. วางบีกเกอร์บนอุปกรณ์ให้ความร้อนซึ่งต่อกับอุปกรณ์ควบแน่นเช่นเดิม และต้มต่ออีก 30 นาที

11. กรองขณะร้อนผ่านกระดาษกรองแผ่นเดิม

12. ล้างด้วยน้ำร้อนจนน้ำล้างหมดความเป็นด่าง

13. ล้างด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ (ร้อยละ 95) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร

14. นำกระดาษกรองพร้อมกากใส่ลงถ้วยกระเบื้องเคลือบอบแห้งในตู้อบไฟฟ้า อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 3 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

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

16. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบพร้อมตัวอย่างที่อบแห้งแล้วไปเผาในเตาอุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วเผาซ้ำจนน้ำหนักคงที่

17. คำนวณหาปริมาณเส้นใยจากสูตร

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

การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (น้ำ)

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

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

วิธีการวิเคราะห์

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

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 - 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งหาน้ำหนัก

2. กระทำเช่นข้อ 1 ซ้ำ จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1 - 3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนอย่างละเอียดประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว

4. นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5 – 6 ชั่วโมง

5. นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งหาน้ำหนัก

6. อบซ้ำอีกครั้งละประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างๆ ของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1 - 3 มิลลิกรัม

7. คำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

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

การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. เตาเผา (furnace)
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีวิการเคราะห์

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

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 60° องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ปิดสวิทซ์เตาเผา แล้วรอประมาณ 30 - 45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาลดลงก่อน แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้นปล่อยให้เย็น แล้วชั่งน้ำหนัก

2. เผาซ้ำอีกครั้งละประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1 - 3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนอย่างละเอียดประมาณ 1 - 2 กรัมใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว นำไปเผาในตู้ควันจนหมดควันแล้วจึงนำเข้าเตาเผา ตั้งอุณหภูมิเตาเผาไว้ที่ 600 - 800 องศาเซลเซียสและกระทำเช่นเดียวกับ 1 - 2

4. คำนวณหาปริมาณเถ้าจากสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้าคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก} = 100 \times \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินเอ

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. ขวดก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร
2. ไฮโดรควิโอน 0.1 กรัม
3. เอทานอล 95%
4. โปแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 50%
5. น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร
6. phenolphthalein 0.1%
7. เมทานอล
8. เครื่อง HPLC (High perfermance Liquid Chromatography)
9. ตัวอย่างสาหร่ายผมนาง 50 กรัม

วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างสาหร่ายผมนาง **กราซิลาเรีย ฟิชเชอไร** ประมาณ 50กรัม ใส่ในขวดก้นกลม ขนาด 500 มิลลิลิตร เติม 0.1 กรัม ไฮโดรควิโนน เอทธานอล (3 - 4 เท่าของน้ำหนักตัวอย่าง) 50% โปแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในน้ำ (เติมเท่ากับน้ำหนักตัวอย่าง reflux ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที โดยใช้ magnetic stirrer คนตลอดเวลา หลังจาก sapomification rinse condenser ด้วยน้ำ 20 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็นที่ 40 องศาเซลเซียส เทใส่ saparating funnel สกัดด้วย n - haxane 100 มิลลิลิตร 2 - 3 ครั้ง สารละลายที่สะกัดได้นำมารวมกันล้างด้วยน้ำจนหมดด่าง ทดสอบโดยการเติม 0.1 % phenolphthalein กรองผ่าน sodium sulphate anhydrous นำไป evaporate นำกากไปละลายด้วย methanol กรองผ่าน 0.45 um ตรวจวัดด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ UV - detection ที่ 325 nm

การวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีน

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

การเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างสาหร่ายผมนาง **กราซิลาเรีย ฟิชเชอไร** ที่บดละเอียดแล้ว 5 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 400 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากันเท่าที่ทำได้
3. นำไปให้ความร้อนจนกระทั่งอุณหภูมิถึง 90 องศาเซลเซียส (คนเป็นครั้งคราว) คงให้ความร้อนต่อไปอีกประมาณ 30 นาที
4. นำมากรอง แล้วนำสารละลายที่ได้จากการกรองทำปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น (= สารละลายตัวอย่าง)

วิธีการวิเคราะห์

1. pipelte 20 มิลลิลิตรสารละลายตัวอย่าง เติม 1 มิลลิลิตร ISA Solution และ
2. 1 ml Acetate buffer ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 30 มิลลิลิตร
3. ใส่ Magnetic bar (แท่งแม่เหล็กสำหรับคน)
4. นำไปวัดค่า I^- โดย Iodide Ion Selective Electrode Method

หมายเหตุ

Type of Standard addition = Auto

Δu = ≠ 12 mv

No. of additon ≠ 3

Standard Concentration (Cstd) : Sample Concentration (Cusmpl)

20 : 1 (สำหรับ 10 ml Exchange unit)

factor = 12.5

- ค่าที่อ่านได้คือความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออนในสารละลายตัวอย่าง
- วิธีการใช้เครื่อง pH / Ion Meter อ่านได้จากคู่มือที่หากับเครื่องหรือปรึกษากับบริษัทที่ซื้อ

การวิเคราะห์หาปริมาณแป้ง (starch)

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น
2. 50% NaOH
3. Fehling solution
4. 1% เมทิลีนบลู

วิธีการเตรียมตัวอย่าง

นำสาหร่ายผมนาง **กราซิลาเรีย ฟิชเชอไร** ที่ไดจากการอบแห้งแล้วนำมาปั่นจนได้เป็นผงละเอียด จากนั้นนำมาทำการวิเคราะห์

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างที่ได้จากการปั่นให้ละเอียดแล้ว 205 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. เติมน้ำกลั่นลงไป 100 - 150 มิลลิลิตร แล้วใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากัน

3. เติม 20 มิลลิกรัม กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น แล้วคนให้เข้ากัน จากนั้นนำไปทกการรีฟลักซ์เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

4. จากนั้นนำไปปรับพีเอชให้อยู่ในสภาพที่เป็นกลางโดยใช้ 50% NaOH

5. ถ่ายให้ขวดวัดปริมาตรขนาด 200 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ได้ด้วยน้ำกลั่น

6. นำไปกรอง

7. นำสารละลายที่ได้จากการกรองแล้วไปไตรเตรทกับ Fehling solution โดยใช้ 1% Methylene Blue เป็นอินดิเคเตอร์

8. นำไปคำนวณผลด้วยแฟคเตอร์ 0.90 ค่าที่ได้คือ แป้ง (Starch)