



อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

วิธีดำเนินการวิจัย

สำหรับทะเลที่ไปในการทดลองเป็นสำหรับทะเลสีแดง (red algae) ใน  
Division Rhodophyta) คลาส Rhodophyceae) (Class Rhodophyceae)  
แฟมิลี Gracilariaceae) และจีนัส Gracilaria) (Family Gracilariaceae) และจีนัส  
Gracilaria) มีอยู่สองชนิดที่ไปในการศึกษา คือ

สำหรับเขากวาง (Gracilaria sp.) เก็บจากชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของ  
ประเทศไทย โดยเก็บบริเวณชายหาดบ้านแหลมเทียน ตำบลอ่าวข่อย อำเภอเมือง  
จังหวัดตราด

สำหรับพม นาง หรือสาขพม นาง หรือสาขพม วุ้น (Gracilaria verrucosa)  
เก็บจากชายฝั่งทะเลด้านตะวันตกของอ่าวไทย บริเวณฝั่งแก่ง ตรงข้ามสถานีประมงสงขลา  
ตำบลหัวเขา อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา

การศึกษารวบรวมสาขพม ทั้งสองชนิดนี้ เป็นการศึกษาเปรียบเทียบองค์ประกอบต่างๆ  
ของสาขพม ในระยะต่าง ๆ ของวัฏจักรชีวิตของสาขพม ในแต่ละเดือน ในปี พ.ศ.  
2522 โดยเริ่มเก็บสาขพมจากสถานที่ดังกล่าวทุกเดือน ตั้งแต่เดือนมกราคมจนถึงเดือน  
กรกฎาคมของปีเดียวกัน สาขพมแต่ละชนิดที่เก็บได้ในแต่ละเดือนจะนำมาแยกออกเป็นพวก  
ตามระยะต่าง ๆ ในวัฏจักรชีวิต คือ ระยะแกมมีโตไฟท์ ระยะคาร์โบสปอโรไฟท์ และระยะ  
เตตราสปอโรไฟท์ ในการแยกสามารถเห็นความแตกต่างได้ชัดเจน ระหว่างระยะ  
แกมมีโตไฟท์กับระยะคาร์โบสปอโรไฟท์ ส่วนระยะเตตราสปอโรไฟท์นั้นต้องทำการตรวจดู

ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ในแต่ละเดือนสำหรับที่เก็บได้อาจพบระยะในวัฏจักรชีวิตเพียงระยะเดียว หรือหลายระยะปนกันก็ได้ เมื่อแยกสำหรับแต่ละชนิดในช่วงหนึ่งออกตามระยะในวัฏจักรชีวิตแล้ว นำสำหรับนั้นมาล้างน้ำจนกระทั่งสำหรับสะอาดปราศจากโคลนและกรวดที่รากยึดเกาะไว้ ผึ่งแดดบนตะแกรงให้แห้งแล้วนำไปล้างเช่นนี้อีก 3-4 ครั้ง สำหรับแต่ละระยะในวัฏจักรชีวิตของแต่ละเดือนนับเป็นตัวอย่างหนึ่งที่ใช้ในการทดลองวิเคราะห์

### วิธีการทดลองสกัดวัน

นำสำหรับแต่ละตัวอย่างที่ได้ผึ่งแดดจนแห้งแล้วไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อให้สำหรับแห้งสนิท นำสำหรับที่แห้งสนิทนี้มา 10 กรัม ใส่ลงในขวดเออร์เลนเมเยอร์ฟลอส (Erlenmeyer flask) ขนาดความจุ 1,000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 150 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดด้วยแผ่นอลูมิเนียม (aluminium foil) นำไปนึ่งในหม้อความดันที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลาครึ่งชั่วโมง นำมากรองคืนด้วยเครื่องคั้นน้ำผลไม้ โดยใช้ผ้าขาวบางหุ้ม 2 ชั้น รองอยู่บนตะแกรงภายในเครื่องคั้นในขณะที่สารละลายวันยังร้อนอยู่ ล้างขวดด้วยน้ำร้อนครั้งละ 10 มิลลิลิตร อีก 3 ครั้ง เทสารละลายวันใส่แผ่นอลูมิเนียมที่หุ้มเป็นรูปภาชนะขนาด 8 x 4 นิ้ว วางทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ส่วนกากที่เหลือนำไปใส่ขวดเติม แล้วเติมน้ำกลั่นอีก 100 มิลลิลิตร นำไปนึ่งในหม้อความดันและกรองคืนอีกครั้ง เช่นเดียวกับครั้งแรก นำวันที่ได้จาก การกรองคืนทั้งสองครั้งมารวมกัน เมื่อสารละลายวันเย็นที่อุณหภูมิห้องจะแข็งตัว (set gel) ในภาชนะอลูมิเนียม นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำประมาณ -10 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะทำให้วันหลุดแยกออกจากส่วนที่เป็นน้ำแข็ง นำออกมาวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้น้ำแข็งละลาย เจาะรูข้างใต้แผ่นอลูมิเนียมเพื่อให้วันที่ละลายออกไปทางรู เจือปนและสิ่งสกปรกต่าง ๆ ออกไปจากวันที่ไม่ละลายด้วย วันจะอยู่ในภาชนะอลูมิเนียมวางทิ้งจนวันแห้งสะเด็ดน้ำ จึงนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง วันที่ได้นี้นำไปย้งหาน้ำหนักแห้งและคำนวณหาเปอร์เซ็นต์วันที่สกัดได้จากน้ำหนักแห้งของสำหรับ

$$\text{เปอร์เซ็นต์จูน} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของจูน}}{\text{น้ำหนักแห้งของสำหรับาย}} \times 100$$

ในแต่ละตัวอย่างของสำหรับายจะทำการทดลองสกัดซ้ำ 3 ครั้ง

วิธีวิเคราะห์และทดสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ของสำหรับาย

ก. การหาความแข็งของจูน (gel strength)

เครื่องมือ : เครื่องบดและตะแกรงขนาด 40 เมล (mesh)

: gelometer และถ้วยจูน (gelly cup)

บริษัท STANHOPE SETA

: agar strength tester EN-M25

วิธีการ

จูนที่สกัดได้และอบแห้งแล้วนำไปบดด้วยเครื่องบด ผ่านตะแกรงขนาด 40 เมล นำจูนที่บดได้จากแต่ละตัวอย่างที่อบแห้งมา เตรียมสารละลายจูนความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยชั่งจูน 3 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร นำไปต้มในอ่างน้ำร้อนที่ควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิประมาณ 70 องศาเซลเซียส คนด้วยแท่งแก้วจูนละลายหมด เทตัวอย่างสารละลายจูนความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ นี้ลงในถ้วยจูน แล้ววางทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าความแข็งของจูนโดยเครื่องเจลโลมิเตอร์เพื่อดูว่าปลายเข็มสามารถแทงลงไป ในเนื้อจูนได้ลึกเท่าใด ค่าที่วัดได้มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

การวัดโดยใช้เครื่อง อการ์ สเตรน เทลเตอร์ โดยเตรียมสารละลายจูนที่สกัดได้ ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ใส่ในบีกเกอร์ขนาดความจุ 50 มิลลิลิตร วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 ชั่วโมง นำไปวัดค่าความแข็งของจูนโดยเครื่อง อการ์ สเตรน เทลเตอร์ โดยเครื่องนี้จะมีพื้นที่ผิวที่แยกผิวหน้าจูนเท่ากับ 1 ตารางเซนติเมตร และเพิ่ม





น้ำหนักที่กวดจนกระทั่งเนื้อจืดแตก ค่าที่วัดได้คือ ค่าความแข็งของจืดมีหน่วยเป็นกรัมต่อ ตารางเซนติเมตร การวัดคุณภาพของจืดโดยเครื่องเจลดโลมิเตอร์ และอการ์ สเตรน เทลเตอร์ แตกต่างกัน การวัดด้วยเครื่องเจลดโลมิเตอร์เป็นการเปรียบเทียบคุณภาพของ จืด ถ้าเข็มสามารถแทงลงไปใ้เนื้อจืดน้อยแสดงว่าจืดที่นำมาวัดมีคุณภาพดี ถ้าเข็มแทง ลงไปใ้เนื้อจืดมากนั่นคือเนื้อจืดอ่อน คุณภาพของจืดไม่ดี ส่วนการวัดโดยเครื่องอการ์ สเตรน เทลเตอร์ เป็นการวัดความแข็งของจืดของน้ำหนักในพื้นที่หนึ่งตารางเซนติเมตร

#### ย. การหาปริมาณโปรตีน

การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีของ Micro-Kjeldahl แล้วคำนวณปริมาณ โปรตีนด้วยการคูณปริมาณไนโตรเจนด้วย 6.25 (A.O.A.C., 1970)

เครื่องมือ : กะบะทรายสำหรับย่อย (digest) ในตู้ควัน โดยใช้กะบะ ใ้ทรายตั้งบนเตาไฟฟ้า ซึ่งจะทำให้ทรายมีอุณหภูมิประมาณ 300 องศาเซลเซียส

: ขวด Kjeldahl ขนาด 10 มิลลิลิตร

: เครื่องกลั่น Micro-Kjeldahl

สารเคมี : กรดซัลฟูริก (sulfuric acid) ปราค่าจากไนโตรเจน

: เมอร์คิวริกออกไซด์ (mercuric oxide) ปราค่าจาก ไนโตรเจน

: โปแตสเซียมซัลเฟต (potassium sulphate) ปราค่าจาก ไนโตรเจน

: โซเดียมไฮดรอกไซด์-โซเดียมไทโอซัลเฟต (sodium hydroxide-sodium thiosulphate) โดยละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ 60 กรัม และโซเดียมไทโอซัลเฟต 5 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร

- : สารละลายกรดบอริกอิ่มตัว (boric acid saturated)
- : สารละลายอินดิเคเตอร์ (indicator solution) เตรียมโดยไฮเมทิลเรด (methyl-red) 0.2% ผสมกับเมทิลีนบลู (methylene-blue) 0.2% ในปริมาณที่เท่ากัน
- : กรดเกลือ (hydrochloric acid) ความเข้มข้น 0.02 นอร์แมล (0.02 N)

- วิธีการ :
- : การย่อย (digestion) นำสำหรับแห้งมาบดผ่านตะแกรงขนาด 40 เมลล์ นำตัวอย่างสำหรับที่บดแล้วมาตัวอย่างละ 0.1 กรัม ใส่ในขวด Kjeldahl แล้วเติมโปแตสเซียมซัลเฟต  $1.9 \pm 0.1$  กรัม เมอร์คิวริกออกไซด์  $40 \pm 10$  มิลลิลิตร และกรดซัลฟูริก  $2.0 \pm 0.1$  มิลลิลิตร นำมาย่อยในกะบะทรายประมาณ 4 ชั่วโมง แล้ววางทิ้งไว้ให้เย็น
  - : การกลั่น สำหรับที่ถูกย่อยในขวดกลั่นแห้งจากเย็นแล้ว ใส่ในขวดกลั่นของเครื่องกลั่น Micro-Kjeldahl ล้างขวด Kjeldahl ด้วยน้ำกลั่น 5-6 ครั้ง เพื่อให้สารที่ถูกย่อยออกมาหมด โดยใช้น้ำครึ่งละประมาณ 1-2 มิลลิลิตร ใส่กรดบอริกปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในเออร์เลนเมเยอร์ฟลากล้าขนาด 125 มิลลิลิตร เติมอินดิเคเตอร์เมทิลเรด เมทิล-บลูลงไป 2-4 หยด วางให้ปลายของคอนเดนเซอร์ของเครื่องกลั่นจมลงในกรดบอริก หลังจากนั้นเติมไฮเมทิลเรดออกไซด์ ไฮเมทิลโทโอซัลเฟตลงไปในขวดกลั่นประมาณ 8-10 มิลลิลิตร รับปิดจุกและเริ่มกลั่นทันที จนได้สารละลายแอมโมเนีย และน้ำกลั่นประมาณ 15 มิลลิลิตร จึงหยุดเติมน้ำลงไปในสารละลายที่กลั่นได้จนมีปริมาตร 50 มิลลิลิตร



- : การไตเตรท (titration) สารละลายแอมโมเนียที่ถูกสับ  
โดยกรดบอริก จะนำมาไตเตรทกับกรด กลีโกลความเข้มข้น  
0.02 นอร์แมล
- : การทำแก๊ตผลาด (blank) นำสารเคมีต่าง ๆ มาทำ  
การย่อย และกลั่นโดยไม่มีสำหรับตัวอย่าง เพื่อทำการแก้  
ค่าที่คำนวณได้ แล้วนำมาไตเตรทกับกรดไฮโดรคลอริก  
0.02 นอร์แมล ปริมาณกรดกลีโกลที่ใช้ไตเตรท จะนำไป  
ใช้ในการคำนวณแก้การคำนวณหาปริมาณไนโตรเจน

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน} = \left[ (\text{ปริมาณกรดกลีโกลที่ไตเตรทจากสำหรับ} \right. \\ \left. \text{ตัวอย่าง} - \text{ปริมาณกรดกลีโกลจากการทำแก} \right. \\ \left. \text{๊ตผลาด) } \times \text{ความเข้มข้นของกรดกลีโกล } \times \right. \\ \left. 14.007 \times 100 \right] \div \text{น้ำหนักของสำหรับ} \\ \text{ตัวอย่าง (มิลลิกรัม)}$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีน} = \text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน} \times 6.25$$

ในการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนนี้ สำหรับแต่ละตัวอย่างจะนำมา  
วิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนเป็นเปอร์เซ็นต์

#### ค. การหาปริมาณไขมัน

การหาปริมาณไขมันโดยการสกัดด้วยอีเทอร์เสียมอีเทอร์ (petroleum  
ether) ตามวิธีของ A.O.C.S. (1980) ด้วยเครื่องกลั่น Soxlet

เครื่องมือ : เครื่องกลั่น (soxlet)

: กระดาษกรอง Whatman No. 2

- : กะบะทราย และตุ้ควัน
- : เต้าไฟฟ้า

สารเคมี : ซีโตรเลียมอีเทอร์

วิธีการ : ชั่งตัวอย่างสำหรับที่ผ่านตะแกรงขนาด 40 เมลล์ ประมาณ 4-5 กรัม อย่างละเอียด ใสลงในกระดาษกรอง Whatman No. 2 แล้วห่อฟิว

: นำกระดาษกรองที่บรรจุตัวอย่างนี้ใส่ลงใน เครื่องกลั่น Soxlet

: เริ่มกลั่นซีโตรเลียมอีเทอร์ด้วยเต้าไฟฟ้าความร้อนไม่สูง โดยให้ซีโตรเลียมอีเทอร์หยดลงบนกระดาษกรองที่ใส่สำหรับ ประมาณ 150 หยดต่อนาที ซีโตรเลียมอีเทอร์จะละลาย ไชมันจากตัวอย่างแล้วไหลลงสู่ขวดสกัด (extraction flask) ทำการสกัดเป็นเวลานาน 4 ชั่วโมง

: ระเหยซีโตรเลียมอีเทอร์ที่อยู่ในขวดสกัดด้วยกะบะทรายใน ตุ้ควันออกไปจนหมดจนเหลือแต่ไชมัน นำไปยั่งหาน้ำหนัก

การคำนวณหาปริมาณไชมัน

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไชมัน} = \frac{\text{น้ำหนักของไชมัน}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง}} \times 100$$

การหาปริมาณไชมันนี้ ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำสองครั้ง แล้วนำมา

คำนวณหาค่าเฉลี่ย

ง. การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตเป็นสารโพลีแซคคาไรด์ ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ซึ่งเมื่อถูกความร้อนอุณหภูมิสูง ๆ ก็จะถูกเผาไหม้กลายเป็นแก๊สได้ง่าย คาร์โบไฮเดรตนี้ไม่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย ดังนั้น จึงสามารถคำนวณหาค่าได้

$$\text{เปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรต} = \left[ \frac{\text{น้ำหนักแห้งของสำหรัย} - (\text{น้ำหนักของโปรตีน} + \text{น้ำหนักของเถ้า})}{\text{น้ำหนักแห้ง}} \right] \times 100$$

ซึ่งคาร์โบไฮเดรตนี้จะรวมถึงปริมาณของวุ้นด้วย

จ. การหาปริมาณเถ้า (ash)

การหาปริมาณเถ้าจากสำหรัยโดยการเผาในตู้เผาไฟฟ้าตามวิธีของ A.O.C.S. (1980)

อุปกรณ์ : เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

: ถ้วยกระเบื้องทนไฟ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

: เดสิคเคเตอร์ (desiccator)

: ตู้เผาไฟฟ้า (muffle furnace)

วิธีการ : เผาถ้วยกระเบื้องจนร้อนแดง แล้ววางทิ้งไว้ให้เป็นขี้ ๆ ใน desiccator ที่อุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนักของถ้วยกระเบื้อง ทำเช่นนี้หลาย ๆ ครั้งจนได้น้ำหนักคงที่

: นำสำหรัยที่อบแห้งมาบดเป็นผงละเอียด ผ่านตะแกรงขนาด 40 เมลล์ ชั่งสำหรัยที่บดเป็นผงนี้ 2-3 กรัม อย่างละเอียด ใส่ในถ้วยกระเบื้อง



: นำไปเผาในตู้ไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 550-650 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

: นำออกจากตู้เผาไฟฟ้า ใส่ใน desiccator วางทิ้งไว้ให้

เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปยังน้ำหนัก และนำไปเผาซ้ำอีกเพื่อหา

น้ำหนักคงที่

$$\text{เปอร์เซ็นต์ถ้ำ} = \frac{\text{น้ำหนักถ้ำ}}{\text{น้ำหนักสำหรัยแห้ง}} \times 100$$

