

บทที่ 2

วิธีทำการวิจัย2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย2.1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสำรวจแหล่ง, ชนิดสาหร่ายทะเล

- 2.1.1.1 เรือยนต์ดีดท้าย (เรือเพลายาว) ขนาดเล็ก 1 ลำ
- 2.1.1.2 ชุดค้ำน้ำประกอบควยหน้ากากกันน้ำ, คีนกม, ห่อหายใจ จำนวน 1 ชุด
- 2.1.1.3 ถุงพลาสติกบรรจุสาหร่ายสดขนาดต่าง ๆ กัน
- 2.1.1.4 ขวดบรรจุสาหร่ายตัวอย่าง
- 2.1.1.5 น้ำยาฟอร์มาลิน (Formalin) ความเข้มข้น 10%
- 2.1.1.6 กระสอบบรรจุสาหร่ายแห้งเพื่อนำไปทดลองสกัด
- 2.1.1.7 กล้องถ่ายภาพสีขาวดำและสีธรรมชาติ บันทึกขนาดและสีสรรตลอดจนแหล่งของสาหร่ายทะเล
- 2.1.1.8 สมุด คินสอ บันทึกข้อความปลั๊กย่อย 1 ชุด

2.1.2 เครื่องมือสกัดโซเดียม แอลจีเนต ในรูปของกรกแอลจีนิค

- 2.1.2.1 Beaker ขนาด 1000 มิลลิลิตร, 500 มิลลิลิตร, 150 มิลลิลิตร และ 100 มิลลิลิตร สำหรับบรรจุสาหร่าย, สารเคมี
- 2.1.2.2 Measuring cylinder ขนาด 100 มิลลิลิตร ใช้ชั่งตวงสารเคมี
- 2.1.2.3 กรวยแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 200 มิลลิเมตร พร้อมน้ำลีนินบาง ใช้กรองสารละลายโซเดียม แอลจีเนต และกรรไกรใช้ตัดย่อยสาหร่ายให้มีขนาดเล็กกลง
- 2.1.2.4 กรวยแก้วขนาดเล็กเส้นผ่าศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตร พร้อมกระดาษกรอง Whatman No.4

2.1.2.5 กรวยแก้วขนาดกลางก้นเรียบมีรูพรุนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 120 มิลลิเมตร ใช้กรองตะกอนลอยของกรดแอลจีนิค, พร้อมถ้วยกระดาษกรอง Whatman No.4 ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนอย่างละเอียดถึง 0.001 กรัม

2.1.2.6 กระจกนาฬิกา บรรจุกรดแอลจีนิคเพื่อนำไปอบแห้ง

2.1.2.7 Water bath ใช้ควบคุมอุณหภูมิระหว่างการย่อยสลาย (Digestion)

2.1.2.8 Hot plate ชนิดปรับความร้อนได้

2.1.2.9 เครื่องกวนสารละลายขณะการย่อยสลาย

2.1.2.10 pH paper ช่วง pH ระหว่าง 1-7 และ 7-14, 2 ชุด

2.1.2.11 Thermometer 0-50°C และ 0-100°C

2.1.2.12 เครื่องชั่งสารเคมี ชนิดละเอียดถึง 0.001 กรัม

2.1.2.13 เตาอบอุณหภูมิ 0-200°C ควบคุมอุณหภูมิได้ $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ที่ 105°C

2.1.3 เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์การฟอกสีของกรดแอลจีนิค

2.1.3.1 Spectrophotometer ชนิด Buasch & Lomb "Spectronic 20" พร้อมอุปกรณ์

2.1.3.2 แท่งแก้วกวน สำหรับกวนสารเคมีที่ใช้ในการฟอกสี

2.1.3.3 เครื่องกวนสำหรับกวนเร็ว ใช้ในการฟอกสี

2.1.3.4 กรวยแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตร พร้อมกระดาษกรอง Whatman No.4

2.1.3.5 กรวยแก้วขนาดกลางก้นเรียบมีรูพรุนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 120 มิลลิเมตร พร้อมถ้วยกระดาษกรอง Whatman No.4 ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนอย่างละเอียดถึง 0.001 กรัม ใช้สำหรับกรองตะกอนกรดแอลจีนิคที่ฟอกสีแล้ว

2.1.3.5 กระจกนาฬิกา บรรจุกรดแอลจีนิคเพื่อนำไปอบแห้ง

2.1.3.6 เตาอบอุณหภูมิ 0-200°C ความคุมอุณหภูมิได้ $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ที่ 105°C

2.1.3.7 เครื่องชั่งสารเคมี ชนิดละเอียดถึง 0.001 กรัม

2.1.3.8 Thermometer 0-50°C วัคอุณหภูมิขณะพอกสี

2.1.4 เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์คุณสมบัติบางประการของกรกแอลจีนิค

2.1.4.1 Beaker ขนาด 100 มิลลิลิตร

2.1.4.2 Burette ขนาด 50 มิลลิลิตร, 100 มิลลิลิตร พร้อมที่ปิด

2.1.4.3 pH paper ช่วง pH 1-7 และ 7-12

2.1.4.4 กรวยแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตร พร้อมกระดาษกรอง
Whatman No.40

2.1.4.5 กระจกนาฬิกาไขว้แบบแห้งกรกแอลจีนิค

2.1.4.6 เตาอบ 0-200°C ความคุมอุณหภูมิได้ $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ที่ 105°C

2.1.4.7 เครื่องชั่งสารเคมี ชนิดละเอียดถึง 0.001 กรัม

2.1.5 เครื่องมือสกัดวัน ประกอบด้วย

2.1.5.1 Beaker ขนาด 1000 มิลลิลิตร, 600 มิลลิลิตร, 100 มิลลิลิตร

2.1.5.2 Measuring cylinder ใช้ชั่งตวงสารเคมี

2.1.5.3 กรวยแก้วขนาดใหญ่เส้นผ่าศูนย์กลาง 200 มิลลิเมตร พร้อมผ้า
ลินินบาง ใช้กรองสารละลายวัน

2.1.5.4 Hot plate ชนิดปรับความร้อนได้

2.1.5.5 เครื่องกวนเร็ว ความเร็วคงที่

2.1.5.6 กระดาษวัด pH ช่วง pH ระหว่าง 1-7 และ 7-12

2.1.5.7 กรรไกร ใช้ตัดสาหร่ายให้มีขนาดเล็กกลง

2.1.5.8 เครื่องชั่งชนิดละเอียดถึง 0.001 กรัม

2.1.5.9 เตาอบ 0-200°C

2.1.6 เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์คุณสมบัติบางประการของวุ้น ประกอบด้วย

2.1.6.1 Spectrophotometer ชนิด Buasch & Lomb "Spectronic 20" พร้อมอุปกรณ์ ใช้เปรียบเทียบความใส (% Transmittance) ของวุ้น

2.1.6.2 หลอดแก้วยาว 50 เซนติเมตร ปลายเปิด โค่นปัดเรียบเสมอขอบปาก ของหลอดแก้ว มีพื้นที่ภาคตัดขวางเท่ากับ 1 ตารางเซนติเมตร พร้อมดินน้ำมัน สำหรับใช้เป็น น้ำหนักดวงให้หนัก ใช้วัดความแข็งตัว (gel strength) ของวุ้น

2.1.6.3 Burette ขนาด 100 มิลลิลิตร

2.1.6.4 Beaker 1000 มิลลิลิตร

2.1.6.5 Hot plate ชนิดปรับอุณหภูมิได้

2.1.6.6 Thermometer 0-50°C และ 0-100°C

2.1.6.7 นาฬิกาจับเวลา

2.1.7 เครื่องมือสกัดไอโอดีน ประกอบด้วย

2.1.7.1 ถังน้ำเหล็กเคลื่อนสั้งกะสีขนาดใหญ่ 1 ใบ ใช้บรรจุสารทรายแห้ง

2.1.7.2 เตาไฟขนาดใหญ่ ใช้เผาสารทรายในถังน้ำของข้อ 2.1.7.1

2.1.7.3 กรวยแก้วขนาดใหญ่เส้นผ่าศูนย์กลาง 200 มิลลิเมตร พร้อมผ้าลินินบาง ใช้กรองสารละลายที่ได้จากการล้างเตาถ่านของสารทรายที่เหลือจากเผา

2.1.7.4 Beaker ขนาด 1000 มิลลิลิตร, 500 มิลลิลิตร, 100 มิลลิลิตร

2.1.7.5 Hot plate ชนิดปรับอุณหภูมิได้

2.1.7.6 Measuring cylinder ใช้ชั่งตวงสารเคมี

2.1.7.7 กรวยแก้วขนาดเล็กเส้นผ่าศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตร พร้อมกระดาษกรอง Whatman No.40 ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนถึง 0.001 กรัม

2.1.7.8 Desiccator ดูดความชื้นของไอโอดีนและกระดาษกรอง

2.1.7.9 เครื่องชั่ง ชนิดละเอียดถึง 0.001 กรัม

2.1.7.10 กะทะเหล็กไม่เป็นสนิม (Stainless steel) ใช้ต้มเคี่ยวสารละลายที่ประกอบด้วยไอโอดีนและเกลืออัลคาไล

2.2 วัตถุดิบและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

2.2.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการสกัดโซเดียม แอลจีเนต ในรูปกรดแอลจีนิค

2.2.1.1 สาหร่ายทะเลสีน้ำตาลสกุล Sargassum sp. (ภาพที่ 3-2)

2.2.1.2 สาหร่ายทะเลสีน้ำตาลสกุล Padina sp. (ภาพที่ 3-5)

2.2.1.3 สาหร่ายทะเลสีน้ำตาลสกุล Turbinaria sp. (ภาพที่ 3-6)

2.2.1.4 สาหร่ายทะเลสีแสดสกุล Gracilaria sp. (ภาพที่ 3-11)

2.2.1.5 สาหร่ายทะเลสีแสดสกุล Acanthophora sp. (ภาพที่ 3-9)

2.2.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการสกัดกัวโน

2.2.2.1 สาหร่ายทะเลสีแสดสกุล Gracilaria sp. (ภาพที่ 3-10)

2.2.3 วัตถุดิบที่ใช้ในการสกัดไอโอดีน

2.2.3.1 สาหร่ายทะเลสีน้ำตาลสกุล Sargassum sp. (ภาพที่ 3-2)

2.2.4 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดโซเดียม แอลจีเนต

2.2.4.1 1N กรดซัลฟูริก, L.R.

2.2.4.2 1N กรดเกลือ, L.R.

2.2.4.3 โซเดียม คาร์บอเนต (Na_2CO_3) L.R.

2.2.4.4 โซเดียม ไฮดรอกไซด์, L.R., ความเข้มข้น 1N

2.2.5 สารเคมีที่ใช้ในการฟอกสีโซเดียม แอลจีเนต ในรูปกรดแอลจีนิค

2.2.5.1 สารละลายโซเดียม ไฮโปคลอไรท์, G.P.R., ความเข้มข้น 8-10%

2.2.5.2 ถ่านฟอกสี (Charcoal decolourising-powder), L.R.

2.2.5.3 Alumina hydrate, G.P.R.

2.2.5.4 1N กรดเกลือ, L.R., และ 1N กรดซัลฟูริก, L.R.,

2.2.6 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณสมบัติกรดแอลจีนิค

2.2.6.1 สารละลายแมกนีเซียม ออกไซด์, L.R., ความเข้มข้นในราว 1N

2.2.6.2 Night blue indicator, A.R.

2.2.6.3 Ethyl alcohol, L.R., ความเข้มข้น 50%

2.2.6.4 10% Acetic acid

2.2.6.5 10% สารละลายแคลเซียม คลอไรด์ (CaCl_2), L.R.

2.2.6.6. น้ำกลั่น

2.2.6.7 Phenolphthalein, A.R., solution

2.2.6.8 0.25M Calcium acetate, L.R.

2.2.6.9 0.1N โซเดียม ไฮดรอกไซด์, L.R.

2.2.7 สารเคมีที่ใช้ในการสกัด

2.2.7.1 1N กรดซัลฟูริก, L.R.

2.2.7.2 10% Acetic acid, L.R.

2.2.7.3 น้ำกลั่น

2.2.7.4 Phenolphthalein, A.R., solution

2.2.8 สารเคมีที่ใช้ในการฟอกสีน้ำตาล

2.2.8.1 สารละลายโซเดียม ไฮโปคลอไรท์, G.P.R., ความเข้มข้น 8-10%

2.2.8.2 ผงถ่าน (Charcoal decolourising-powder), L.R.

2.2.8.3 Alumina hydrate, G.P.R.

2.2.9 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดไอโอดีน

2.2.9.1 น้ำกลั่น

2.2.9.2 1N กรดซัลฟูริก, L.R.

2.2.9.3 สารละลายอิมคิว โปแตสเซียม คลอเรต, L.R.

2.3 วิธีการสำรวจและการเก็บสาหร่ายทะเล

2.3.1 การสำรวจด้วยเรือยนต์ขนาดเล็ก การสำรวจจะกระทำไ้ผลดีในวันที่ท้องฟ้าแจ่มใส คลื่นลมสงบ (น้ำไม่ขุ่น) จะสามารถมองเห็นโขดหินใต้น้ำและสาหร่ายซึ่งขึ้นปกคลุมเป็นกลุ่มสีน้ำตาลในท้องน้ำในระดับความลึก 1-5 เมตร การเก็บสาหร่ายกระทำได้โดยการดำน้ำลงไปเก็บด้วยมือในสภาพสด แบ่งออกเป็นสามส่วนคือ สาหร่ายที่เก็บได้ส่วนแรกใส่ขวดแก้วคองน้ำยาฟอร์มาลิน เพื่อใช้ประโยชน์ในการวิเคราะห์สกุล (genus) ของสาหร่ายทะเล ส่วนที่สองซึ่งจะต้องมีปริมาณมากเพียงพอไปตากแดดจนแห้งสนิท บรรจุกระสอบเพื่อใช้ในการทดลองสกัด เสร็จแล้วบันทึกภาพสถานที่พบและสีสรร, ขนาดของสาหร่ายทะเลส่วนที่สามเพื่อเป็นหลักฐานในการสำรวจต่อไป

2.3.2 การสำรวจด้วยการเดินเท้าเลียบชายหาด ในวันที่คลื่นลมแรง, กระแสน้ำและคลื่นจะซัดพาสาหร่ายทะเลจากแหล่งต่าง ๆ หลุดจากที่ยึดเกาะมา เกยชายหาดเป็นจำนวนมาก

ดังนั้นการเก็บสาหร่าย, การบันทึกภาพ และการสำรวจบริเวณที่พบสาหร่ายทะเลจะกระทำได้ โดยไม่ต้องใช้เรือยนต์และชุดดำน้ำ

รายละเอียดของผลการสำรวจจะแสดงในตารางที่ 3-1 และภาพที่ 3-1 ถึงภาพที่ 3-11 ในหัวข้อ 3.1

2.4 การทดลองสกัดโซเดียม แอลจีเนทด้วยวิธี Le Gloahec-Herter

2.4.1 การประกอบเครื่องมือ เครื่องมือสำคัญในการทดลองนี้คือเครื่องย่อยสลาย (digestion unit) สำหรับสาหร่ายทะเล, ประกอบตามภาพที่ 2-1, ปรับให้ระดับของสารละลายในภาชนะที่ถูกกวนเท่ากันทุกการทดลอง, ระดับความลึกของใบพัดกวนจากนิวสารละลาย ความเร็วในการกวน คงที่ตลอดการทดลอง

2.4.2 การทดลองสกัดโซเดียม แอลจีเนท ในรูปกรดแอลจีนิค

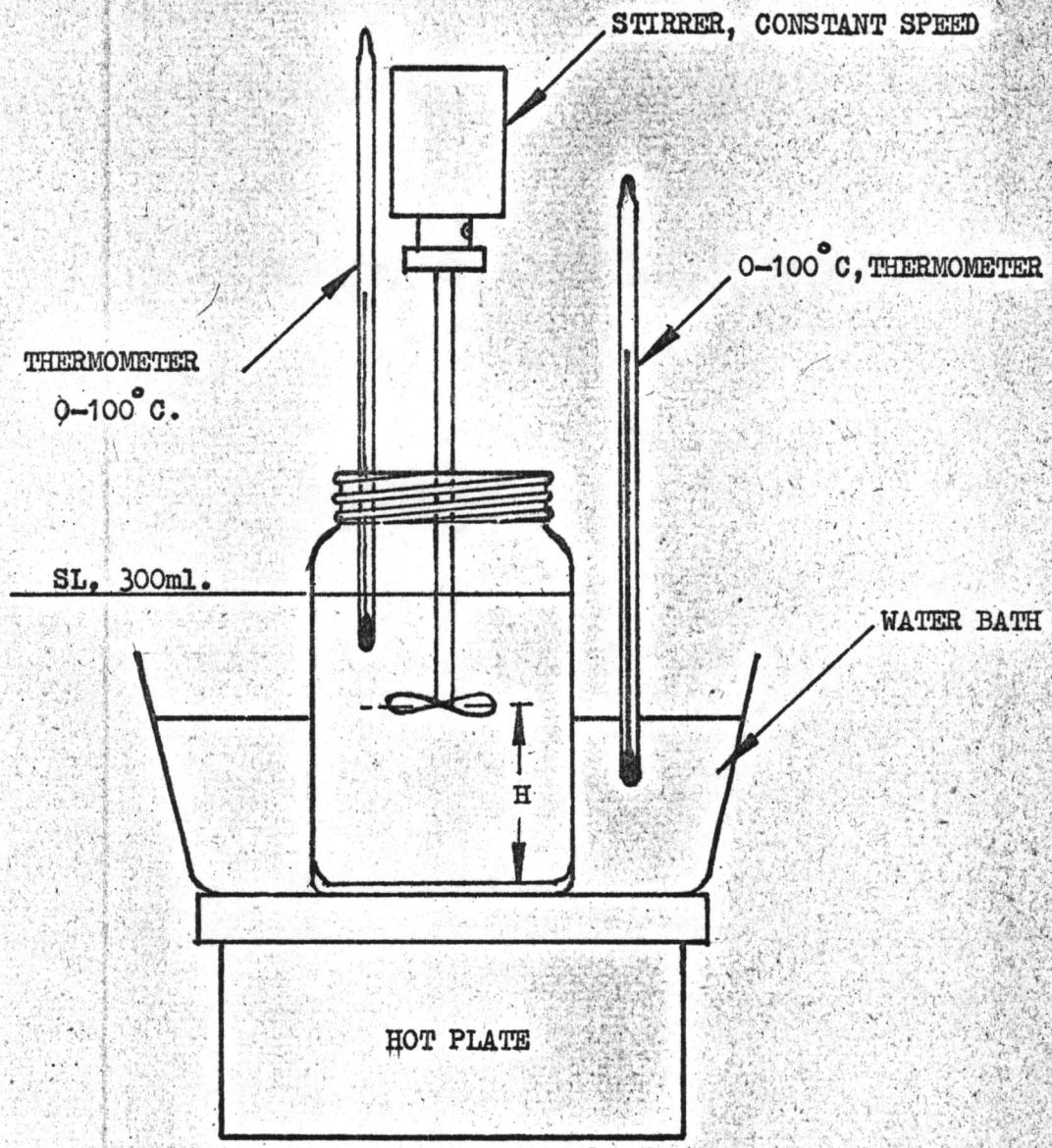
2.4.2.1 ชั่งสาหร่ายแห้ง 20 กรัม, แบ่งออกเป็นสองส่วน ๆ ละ 10 กรัม นำส่วนแรก 10 กรัม ไปอบที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งใหม่คำนวณหาปริมาณความชื้นของสาหร่ายทะเลที่ใช้ทดลอง

2.4.2.2 แخذสาหร่ายแห้งส่วนที่สอง 10 กรัม, ในสารละลาย 0.5N กรดเกลือ, ปรับ pH ประมาณ 5, เป็นเวลา 30 นาที เสร็จแล้วล้างด้วยน้ำสะอาด 5-6 ครั้ง จนหมดเศษทราย

2.4.2.3 ตักสาหร่ายให้ละเอียดที่สุดด้วยกรรไกร

2.4.2.4. นำไปแช่หมักในสารละลาย 200 มิลลิลิตร ของโซเดียม คาร์บอเนต โดยเจือ 1 มิลลิลิตร ของ 1N โซเดียม ไฮดรอกไซด์ ลงไปด้วยทุกครั้งที่ทำการทดลอง

2.4.2.5 หลังการแช่หมักด้วยระยะเวลาต่าง ๆ กัน นำสาหร่ายพร้อมสารละลายนี้มาทำให้เป็น 300 มิลลิลิตร ด้วยการเติมน้ำสะอาดลงไป เสร็จแล้วเทใส่ลงในขวดที่ใช้กวนสารละลายดังแสดงในภาพที่ 2-1, ทำการกวนด้วยเครื่องกวน, ทำให้อ่อนขณะกวน



ภาพที่ 2-1 เครื่องมือย่อยสลายสำหรับถ่ายตะเเด
ระดับน้ำ 300 มิลลิลิตร และความลึกของไม้ปักกวนคงที่
ระดับน้ำ 300 มิลลิลิตร 100-100 มิลลิเมตร ในน้ำกวนคงที่

ควยระยะเวลาการกวนและอุณหภูมิต่าง ๆ กันตามลำดับ

2.4.2.6 กรองสารละลายเหนียวข้นของโซเดียม แอลจีเนต ออกจากกากที่เหลือควยผ้าลินินบาง และกรองต่อควยการใช้กระดาษกรอง Whatman No.4 ตามลำดับ, เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.4.2.7 เติม 1N กรดซัลฟูริกลงในสารละลายที่กรองได้, ปรับ pH ระหว่าง 2.5 - 3.0 จะโคตะกอนลอยของกรดแอลจีนิค แยกเอากรดนี้ออกโดยการไ้กรวยแก้วและกระดาษกรอง Whatman No.4 ที่ทราบน้ำหนักกระดาษแน่นอนละเอียดถึง 0.001 กรัม

2.4.2.8 ล้างกรดแอลจีนิคให้สะอาดควยน้ำสะอาดหลายครั้งบนกระดาษกรองในข้อ 2.4.2.7 จนน้ำที่ล้างมี pH ระหว่าง 5-6

2.4.2.9 นำกรดแอลจีนิคอบให้แห้งสนิทในเตาอบที่อุณหภูมิ $105^{\circ} \pm 1^{\circ}C$ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

2.4.2.10 ชั่งน้ำหนักกรดแอลจีนิคทันทีที่นำกรดออกมาจากเตาอบ

2.4.3 การฟอกสีกรดแอลจีนิค

2.4.3.1 เตรียมสารละลายโซเดียม แอลจีเนต โดยกรรมวิธีในข้อ 2.4.2.1 ถึงข้อ 2.4.2.6

2.4.3.2 แบ่งสารละลายของโซเดียม แอลจีเนต ออกเป็นหลาย ๆ ส่วน ส่วนละ 200 มิลลิลิตร แต่ละส่วนมีความเข้มข้นเท่า ๆ กัน

2.4.3.3 นำแต่ละส่วนของสารละลายนี้ เติมสารที่ใช้ฟอกสี (bleaching agents) ลงไปในปริมาณต่าง ๆ กัน กวนให้เข้ากันควยเวลาต่าง ๆ กัน ที่อุณหภูมิห้องทดลองครั้งที่, เสร็จแล้วกรองควยกระดาษกรอง Whatman No.4

2.4.3.4 นำแต่ละส่วนในข้อ 2.4.3.3 ไปเปรียบเทียบค่าความใส (% transmittance) ควยเครื่อง Spectrophotometer ชนิด Buasch & Lomb "Spectronic 20" ที่ความยาวคลื่น 520μ อุณหภูมิห้องทดลองครั้งที่

2.4.3.5 นำแต่ละส่วนมาทำการตกตะกอนของกรดแอลจีนิค ด้วยการเติม 1N กรดซัลฟูริก ที่ pH 2.5 - 3.0

2.4.3.6 กรองและล้างตะกอนกรดแอลจีนิคด้วยกรรมวิธีเดียวกับข้อ 2.4.2.8 บนกระดาษกรอง Whatman No. 4 ซึ่งทราบน้ำหนักละเอียดถึง 0.001 กรัม

2.4.3.7 อบกรดแอลจีนิคให้แห้งสนิทในเตาอบที่อุณหภูมิ $105^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

2.4.3.8 ชั่งน้ำหนักกรดแอลจีนิคทันทีที่นำออกมาจากเตาอบ

2.5 วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติบางประการของกรดแอลจีนิค

2.5.1 การทดสอบยืนยัน (Identification test) ของกรดแอลจีนิค

2.5.1.1 ละลายกรดแอลจีนิคซึ่งผ่านการฟอกสีแล้วประมาณ 0.5 กรัม ลงในสารละลาย 1M แมกนีเซียม ออกไซด์ (MgO) 50 มิลลิลิตร

2.5.1.2 กรองสารละลายนี้ออกจากส่วนที่ไม่ละลายน้ำด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 40

2.5.1.3 เติม 2.5 มิลลิลิตร ของสารละลายที่ประกอบด้วย 1 ส่วนของ Night blue indicator ใน 4,000 ส่วนของ 50% ethyl alcohol, ลงในสารละลายแอลจีเนทที่กรองได้ (ประมาณ 50 มิลลิลิตร)

2.5.1.4 หากสารละลายในข้อ 2.5.1.3 มีสภาพเป็นกลางจะทำให้สีของ Night blue indicator มีสีน้ำเงินขุ่นมัวแกมน้ำตาลจะต้องเติม acetic acid ความเข้มข้น 1%, ลงไป จนกระทั่งสีของสารละลายมีสีน้ำเงินสดใสหรือสีฟ้าอมน้ำเงิน

2.5.1.5 โตะเตรทสารละลายนี้ด้วย 10% สารละลายแคลเซียม คลอไรด์ หากเกิดตะกอนลอยสีน้ำเงินหรือฟ้า (blue flocs) ของ calcium alginate แสดงว่ากรดที่นำมาวิเคราะห์นี้เป็นกรดแอลจีนิคจริง (McDowell, 1961)

2.5.2 การหาน้ำหนักที่สูญเสียขณะอบแห้งของกรดแอสจินิก

2.5.2.1 ชั่งน้ำหนักกรดแอสจินิกแห้งในบรรยากาศและอุณหภูมิปกติ, ใหละเอียดถึง 0.001 กรัม เพื่อทราบน้ำหนักแน่นอน

2.5.2.2 อบกรดแอสจินิกในเตาอบที่อุณหภูมิ $105 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

2.5.2.3 ชั่งน้ำหนักกรดแอสจินิกทันทีที่นำออกมาจากเตาอบ

2.5.2.4 คำนวณน้ำหนักที่สูญหายไปเมื่อเทียบกับน้ำหนักเดิม ซึ่งไม่ควรจะมีน้ำหนักสูญหายไปมากกว่า 18% (British Pharmaceutical Codex, 1973)

2.5.3 การหาค่าความเป็นกรด (Acid value) ของกรดแอสจินิก

2.5.3.1 ชั่งน้ำหนักกรดแอสจินิกแห้งในบรรยากาศและอุณหภูมิปกติ, ใหละเอียดถึง 0.001 กรัม แบ่งออกเป็นสองส่วน ส่วนละประมาณ 1 กรัม ซึ่งควรหนักเท่ากัน หรือใกล้เคียงกัน

2.5.3.2 ส่วนแรกนำไปวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักที่สูญเสียในหัวข้อ

2.5.2

2.5.3.3 ส่วนที่สองละลายลงใน 80 มิลลิลิตร ของสารละลายที่ประกอบด้วยน้ำ 50 มิลลิลิตร และ 0.25 M Calcium acetate 30 มิลลิลิตร, เขย่าให้เข้ากันดีแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง

2.5.3.4 ไตเตรทหาปริมาณกรดอะซิติก (acetic acid) ที่เกิดขึ้นด้วยสารละลาย 0.1N โซเดียม ไฮดรอกไซด์ ด้วยการใช้สารละลาย phenolphthalein เป็น indicator

2.5.3.5 กระทำซ้ำตั้งแต่ 2.5.3.1 - 2.5.3.4 ใหม่โดยไม่ใช้กรดแอสจินิก (blank titration) คำนวณค่าความเป็นกรดจากสูตร

$$\text{Acid value} = \frac{(A-B) \times 5.61 \times 100}{W(100 - L)}$$

โดยที่ A = ปริมาตร, มิลลิลิตรของ 0.1N NaOH ที่ใช้สำหรับกรดแอสจินิก

B = ปริมาตร, มิลลิลิตรของ 0.1N NaOH ที่ใช้เมื่อไม่มีกรดแอสจินิก

(blank titration)

W = น้ำหนัก, กรัม, ของกรดแอสจินิกที่ใช้

L = เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ในการอบแห้งกรดแอสจินิก

2.5.3.6 ค่าของกรด (acid value) ที่ได้สำหรับกรดแอสจินิกไม่ควรจะต่ำกว่า 230 (British Pharmacuetical Codex, 1973)

2.6 วิธีการสกัดจากสาหร่ายทะเลสกุล Gracilaria sp.

2.6.1 วิธีการสกัดและเปลี่ยนแปลงจากกรรมวิธีของชาวญี่ปุ่น

2.6.1.1 ชั่งน้ำหนักสาหร่ายทะเลสกุล Gracilaria sp., แห่ง 40 กรัม แล้วแบ่งเป็นสองส่วน, ส่วนแรก 20 กรัม นำไปหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นด้วยวิธีเดียวกับหัวข้อ

2.4.2.1

2.6.1.2 ส่วนที่สอง 20 กรัม ล้างด้วยน้ำสะอาดหลาย ๆ ครั้งจนหมดเศษทราย และสิ่งเจือปนอื่น ๆ

2.6.1.3 เทสาหร่ายลงใน beaker ขนาด 1000 มิลลิลิตร ใช้กรรไกรตัดสาหร่ายให้เล็กละเอียด

2.6.1.4 เทสาหร่ายลงใน beaker 600 มิลลิลิตร เติมน้ำลงไป 300 มิลลิลิตร ปรับ pH ของสารละลายให้อยู่ระหว่าง 5-6 ด้วยกรดซัลฟูริก แล้วต้มเคี่ยวที่อุณหภูมิ 90-100°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการกวนเร็วด้วยเครื่องกวนใบพัด, พร้อมกันไปด้วย พยายามรักษาระดับ pH ให้อยู่ระหว่าง 5-6 ตลอดเวลา

2.6.1.5 กรองสารละลายที่โคควยกรวยแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 200 มิลลิเมตร พร้อมค้ำยวกรองลินินบาง

2.6.1.6 ทิ้งส่วนที่กรองไว้ให้เย็นและแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง

2.6.1.7 นำไปตากแดดกลางแจ้งเป็นเวลา 7-8 วันหรือจนวุ้นที่โคแห้งสนิท

2.6.1.8 บคให้เป็นผงโดยใช้ครกตำจนละเอียด แล้วนำไปอบแห้งในเตาอบที่อุณหภูมิ $105 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

2.6.1.9 ชั่งน้ำหนักของวุ้นทันทีที่นำออกมาจากเตาอบ

2.7 วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติบางประการของวุ้น

2.7.1 การทดสอบความแข็งแรง (Gel strength) ของวุ้น

2.7.1.1 เตรียมสารละลายของวุ้น, ความเข้มข้น 1% โดยน้ำหนักที่อุณหภูมิ $90-100^{\circ}\text{C}$ จากวุ้นผง, ใน beaker 1000 มิลลิลิตร, ปริมาตรทั้งหมด 100 มิลลิลิตร

2.7.1.2 ปล่อยให้วุ้นให้เย็นที่อุณหภูมิห้องตลอด, บันทึกเวลาและอุณหภูมิขณะที่วุ้นเริ่มแข็งตัวด้วย, ปล่อยให้แข็งตัวเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

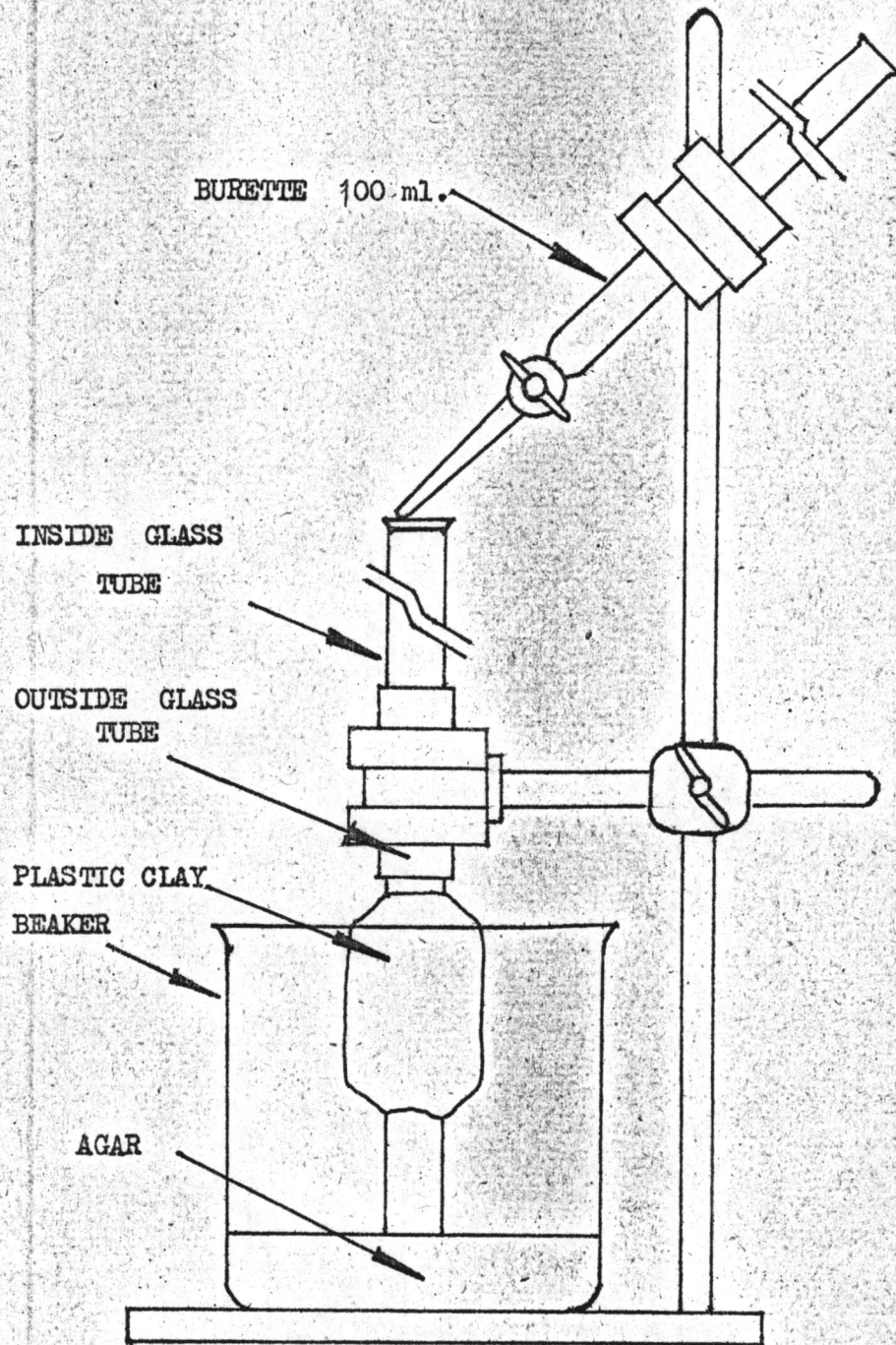
2.7.1.3 จักตั้งเครื่องทดสอบดังแสดงในภาพที่ 2-2

2.7.1.4 เมื่อครบกำหนดเวลา 2 ชั่วโมง, นำวุ้นมาทดสอบด้วยเครื่องมือในข้อ 2.7.1.3 น้ำหนักที่ตกลงมาได้จากน้ำหนักของหลอดแก้วทดสอบซึ่งจะต้องทราบน้ำหนักแน่นอนเสียก่อน, น้ำหนักของคีนน้ำมันที่ไหลลงหลอดแก้วให้หนักเพิ่มขึ้น และน้ำหนักของน้ำในหลอดแก้วซึ่งจะทราบจากการอ่านค่าจากระดับน้ำใน burette 100 มิลลิลิตร

2.7.1.5 คอย ๆ ไซ burette ให้น้ำไหลผ่านผิวค้ำนในของหลอดแก้วทดสอบลงสู่ก้นหลอดแก้วอย่างช้า ๆ บันทึกปริมาตรของน้ำที่ทำให้ผิวของวุ้นเริ่มปริแตก

2.7.1.6 ถ้าหากเติมน้ำจนเต็มหลอดแก้วทดสอบแล้ว ผิววุ้นยังไม่ปริแตกให้นำคีนน้ำมันที่ทราบน้ำหนักแน่นอนหุ้มรอบ ๆ หลอดแก้วเพื่อเพิ่มน้ำหนักสุทธิ แล้วกระทำซ้ำในข้อ

2.7.1.5 ใหม่ จนผิววุ้นปริแตก



ภาพที่ 2-2 เครื่องมือทดสอบ gel strength ของวุ้น

2.7.1.7 นำผลการทดลองมาคำนวณ g-l strength จากสูตร

$$\text{Gel strength ของวุ้น} = \frac{\text{นน. น้ำในหลอดแก้ว} + A + B}{C}, \text{ กรัม/ตร.ซม.}$$

โดยที่ A = นน. ของหลอดแก้วทดสอบ, กรัม

B = นน. คีนน้ำมัน, กรัม

C = พื้นที่ภาคตัดขวางของหลอดแก้ว, ตาราง เซนติเมตร

2.7.2 การเปรียบเทียบสีของวุ้นที่สกัดได้กับวุ้นที่ขายในท้องตลาด

2.7.2.1 เตรียมสารละลาย 1% โดยน้ำหนักของวุ้นด้วยวิธีเดียวกับข้อ 2.7.1.1 สำหรับวุ้นชนิดต่าง ๆ

2.7.2.2 ทำการวัดค่าความใส (% transmittance) ของสารละลายวุ้นเหล่านี้ ในขณะที่ยังร้อนด้วย Spectrophotometer ชนิด Buasch & Lomb "Spectronic 20" ที่ความยาวคลื่น 520 mμ

2.8 วิธีสกัดไอโอดีนจากสาหร่ายทะเลสกุล Sargassum sp.

2.8.1 วิธีการสกัดไอโอดีนคัดแปลงจากวิธีที่ใช้ในฝรั่งเศส

2.8.1.1 ชั่งน้ำหนักสาหร่ายแห้ง Sargassum sp.) 500 กรัม

2.8.1.2 แฉสาหร่ายแห้งนี้ในถังเหล็กอบสังกะสีขนาดจึ่งน้ำใบใหญ่ ๆ ซึ่งบรรจุสาหร่ายได้พอเพียงพอคือ ความร้อนจากการเผาไค้จากเตาไฟขนาดใหญ่

2.8.1.3 ในขณะที่ทำการเผาระวังอย่าให้อุณหภูมิสูงมากจนเกินไป สังเกตดูจากอัตราการเผาไหม้ของสาหร่าย หากมีมากจนเกิดเปลวเพลิงลามออกนอกถัง ต้องยกถังน้ำลงจากเตาทันที และพยายามคุ้ยเขี่ยให้สาหร่ายแต่ละส่วนได้รับความร้อนอย่างสม่ำเสมอ

2.8.1.4 ล้างเถ้าถ่านของสาหร่ายด้วยน้ำสะอาด 1500 มิลลิลิตร, แยกสารละลายออกจากเถ้าถ่านด้วยกรวยแก้วเส้นผ่าศูนย์กลาง 200 มิลลิเมตร พร้อมด้วยผ้าลินินบางซึ่งให้เป็นผ้ากรอง

2.8.1.5 นำสารละลายที่กรองได้นี้มากรองต่อด้วยกระดาษกรองแก้วขนาดเล็ก พร้อมด้วยกระดาษกรอง Whatman No.40 เพื่อแยกเอาเศษเก้่าด้านที่มีบ้างในสารละลาย, ออกให้หมด

2.8.1.6 สารละลายที่กรองไ้จะมีปริมาตรประมาณ 900 มิลลิลิตร ทำให้เป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำสะอาด แล้วต้มเคี่ยวสารละลาย จนมีปริมาตรเหลือเพียง 200 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิ $0-5^{\circ}\text{C}$ จะเกิดผลผลึกของ alkali earth salts

2.8.1.7 กรองเอาสารละลายออกจากผลึกด้วยกระดาษกรอง Whatman No.40 เสร็จแล้วเติม 1N กรดซัลฟูริกลงไป ปรับ pH ในราว 2.5-3.0 เพื่อกำจัดสารประกอบซัลเฟต เขย่าให้เข้ากันจะเกิดแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ ตั้งทิ้งไว้และเขย่าสลับกัน ไป 7-8 ครั้ง จนกลิ่นของแก๊สนี้เจือจางลงมาก หรือไม่มีฟองแก๊สเกิดขึ้นอีกเลย

2.8.1.8 เติมสารละลายอิ่มตัวของโปแตสเซียม คลอเรต (KClO_3) ลงไป 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทำให้ร้อนที่อุณหภูมิ $90-100^{\circ}\text{C}$ จนสารละลายไม่เดือดอีกต่อไป เสร็จแล้วตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิ $25-29^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะเกิดผลึกสีขาวขุ่นหรือขาวแกมน้ำตาลของโปแตสเซียม ไอโอไดด์ (KI)

2.8.1.9 กรองผลึกเกลือไอโอไดด์นี้ด้วยกระดาษกรอง Whatman No.40 ที่ทราบน้ำหนักละเอียดถึง 0.001 กรัม

2.8.1.10 อบในเตาอบที่อุณหภูมิ 105°C จนน้ำหนักคงที่

2.8.1.11 ชั่งน้ำหนักผลึก KI ด้วยเครื่องชั่งอย่างละเอียดถึง 0.001 กรัม