

สรุปผลการประเมินตำรา

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

ลำดับ	ชื่อหนังสือ/ตำรา	ผู้แต่ง	รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ	สรุปผลการประเมินตำรา	ผลการประเมิน	หมายเหตุ
1	ผศ.มาลินี ฉินนานนท์	ปฏิบัติการเคมีเบื้องต้น	ผศ.ดร.เพ็ญศรี เพ็ญประไพ	ตำราเรื่องปฏิบัติการเคมีเบื้องต้น มีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์ดีมาก เป็นงานที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ และก่อให้เกิดการพัฒนาการเรียนการสอนในสาขาวิชาเคมีได้เป็นอย่างดี	ผ่าน	
			ผศ.สุกามาต อินทฤทธิ์	เอกสารประกอบการสอน ปฏิบัติการเคมีเบื้องต้น เล่มนี้มีเนื้อหาครบถ้วนเหมาะสมใช้ประกอบการสอนได้ดี	ผ่าน	
			ผศ.อุไรวรรณ วัฒนกุล	ตำราเรื่อง ปฏิบัติการเคมีเบื้องต้น/ปฏิบัติการเคมีพื้นฐาน มีเนื้อหาเกี่ยวกับทฤษฎีและบทปฏิบัติการทางสารเคมี กระบวนการทางเคมีเบื้องต้น การเตรียมสารเคมี และเทคนิคในห้องปฏิบัติการเคมี ซึ่งที่คุณภาพอยู่ในเกณฑ์ดีมาก ทั้งนี้ เพราะมีการรวบรวมและสรุปความรู้ทางด้านเคมีเบื้องต้นมานำเสนอแนวคิดที่ถูกต้อง ชัดเจน ถือเป็นงานที่มีคุณภาพเหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์และก่อให้เกิดการพัฒนาการเรียนการสอนในสาขาวิชานี้ได้เป็นอย่างดี	ผ่าน	
2	ผศ.มานิช ขำเจริญ	การเพาะเลี้ยงสาหร่าย	ผศ.ดร.สำเนาวิ์ เสาวกุล	ภาษาอ่านเข้าใจง่าย เกษตรกร บุคคลผู้สนใจสามารถนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายได้และใช้ในการประกอบอาชีพส่วนตัว	ผ่าน	
			ผศ.นิศาชล ฤาแก้วมา	ตำรานี้จะเป็นประโยชน์สำคัญค้นคว้าในการเรียนการสอนหากมีการปรับปรุงเล็กน้อย 1. เพิ่มเติมเนื้อหาเรื่องแนวโน้มการศึกษาหรือการนำสาหร่ายไปใช้ในอนาคต 2. จัดรูปเล่มให้ชัดเจน เช่น การเขียนสารบัญภาพ ตาราง คำอธิบายภาพ 3. เอกสารอ้างอิงควรทันสมัยและเป็นปัจจุบันให้มากขึ้น	ผ่าน	
			ผศ.ดร.ระพีพร เรืองช่วย	เป็นตำราที่มีเนื้อหาเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (ขนาดเล็ก) ที่มีรายละเอียดค่อนข้างลึก หากมีการแก้ไขปรับปรุงเนื้อหาให้สมดุลจะทำให้ตำราใช้ได้กว้างขวาง	ผ่าน	

ลำดับ	ชื่อหนังสือ/ตำรา	ผู้แต่ง	รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ	สรุปผลการประเมินตำรา	ผลการประเมิน	หมายเหตุ
3	ดร.ลักษมี วิทยา	ปฏิบัติการเคมีทั่วไป	ผศ.ดร.เพ็ญศรี เพ็ญประไพ	ตำราเรื่อง ปฏิบัติการเคมีทั่วไป มีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์ดีมาก เป็นงานที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์และก่อให้เกิดการพัฒนาการเรียนการสอนในสาขาวิชาเคมีได้เป็นอย่างดี	ผ่าน	
			ผศ.มาลินี จินนานนท์	ตำราเรื่อง ปฏิบัติการเคมีทั่วไป ใช้ประกอบการเรียนการสอนในวิชาเคมีทั่วไปในระดับปริญญาตรี เป็นการช่วยทำการเรียนวิชา ทฤษฎี มีความเข้าใจได้ง่ายขึ้น เป็นตำราที่มีคุณภาพดีมาก สามารถนำไปใช้ประกอบการเรียนการสอนการอ้างอิงได้	ผ่าน	
			ผศ.อุไรวรรณ วัฒนกุล	ตำราเรื่อง ปฏิบัติการเคมีทั่วไป มีเนื้อหาเกี่ยวกับ ทฤษฎี และหลักปฏิบัติการเบื้องต้นทางด้านเคมีทั่วไป มีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์ดีมาก ซึ่งได้มีการรวบรวมความรู้ทางเคมีและสรุปเพื่อนำเสนอความคิดที่ถูกต้องทางปฏิบัติการ รวมทั้งได้ประมวลความรู้ไว้อย่างชัดเจนถือเป็นงานที่มีคุณภาพอันจะนำไปใช้ประโยชน์และก่อให้เกิดการพัฒนาการเรียนการสอนในสาขาวิชานี้ได้เป็นอย่างดี	ผ่าน	
4	นางสาวจันทนา ศรีเนียม	คู่มือปฏิบัติการ โรคและปรสิตตัวน้ำ	ผศ.ธีระวุฒิ เลิศสุทธิขวาล	เนื่องจากบทปฏิบัติการและเป็นวิธีการที่ใช้ทั่วไปเป็นสากลจึงถือว่าเป็นเอกสารตำราวิชาการที่เขียนออกมาได้ระดับดีมีแก้ไขบ้างบางส่วนหากแก้ไขแล้วและตรวจทานอย่างถูกต้องจะทำให้เป็นเอกสารที่มีคุณภาพอีกเล่มหนึ่ง	ผ่าน	
			ผศ.มาโนช ขำเจริญ	ผ่านเกณฑ์การประเมิน แก้ไขในส่วนรายละเอียดเล็กน้อย	ผ่าน	
			ผศ.ดร.วรวุฒิ เกศปราง	ขอบข่ายของเนื้อหาเหมาะสมในการใช้ประกอบการสอนในรายวิชาฯ แต่ต้องมีการปรับปรุงแก้ไขส่วนที่ผิดพลาดให้เหมาะสมและถูกต้อง	ผ่าน	
5	นายนิคม อ่อนสี	สมุทรศาสตร์ฟิสิกส์	รศ.ดร.สุวัจน์ ธีญรส	ผ่านเกณฑ์ในระดับดีมาก	ผ่าน	
			ผศ.ดร.ประเสริฐ ทองหนู่น้อย	ผ่านเกณฑ์ในระดับดี	ผ่าน	
			ผศ.ดร.สำเนาวั เสาวกุล	เนื้อหาครบถ้วนดี ใช้ในการสอนได้	ผ่าน	

ลำดับ	ชื่อหนังสือ/ตำรา	ผู้แต่ง	รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ	สรุปผลการประเมินตำรา	ผลการประเมิน	หมายเหตุ
6	รศ.ดร.สุวัจน์ ธัญรส	วิทยาศาสตร์ทางทะเลเบื้องต้น	ผศ.ดร.ชาญยุทธ สุกทองคง	ตำราเรื่อง วิทยาศาสตร์ทางทะเลเบื้องต้น มีเนื้อหาเกี่ยวกับ สมุทรศาสตร์ กายภาพ สมุทรศาสตร์เคมี และชีววิทยาทางทะเล มีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์ ดีมาก ซึ่งถือเป็นงานที่มีความคิดริเริ่ม อันอาจนำไปใช้ประโยชน์และ ก่อให้เกิดการพัฒนาการเรียนการสอนในสาขาวิชานี้ได้เป็นอย่างดี	ผ่าน	
			ผศ.ดร.ประเสริฐ ทองหนู่น้อย	ผ่านเกณฑ์ในระดับดี	ผ่าน	
			ผศ.ดร.สำเนาวั เสาวกุล	เนื้อหาครอบคลุม มีประโยชน์ใช้เป็นเอกสารค้นคว้าอ้างอิงได้ดี	ผ่าน	
7	รศ.ดร.สุวัจน์ ธัญรส	มลพิษทางทะเลและชายฝั่ง	ดร.วรพร ธารางกูร	ตำราชื่อ มลพิษทางทะเลและชายฝั่ง โดยภาพรวมมีเนื้อหาที่ครบถ้วน เหมาะสมสำหรับใช้ประกอบการสอนในระดับปริญญาตรี มีความทันสมัย และคุณภาพที่ดีมาก	ผ่าน	
			ผศ.ดร.ประเสริฐ ทองหนู่น้อย	ผ่านเกณฑ์ในระดับดี	ผ่าน	
			ผศ.ดร.สำเนาวั เสาวกุล	การจัดทำดีเหมาะสมตามเนื้อหา	ผ่าน	
8	ดร.ฉาณิกา แซ่แง ชุกกลิ่น	จุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม	ผศ.จิโรจน์ พิระเกียรติขจร	ผ่านเกณฑ์ในระดับดีมาก	ผ่าน	
			ดร.วาริท เจาะจิตต์	เนื้อหาครบถ้วนสำหรับใช้อ่านประกอบการสอน ผู้เขียนสามารถศึกษาได้ด้วยตนเอง	ผ่าน	
			ดร.สุภามิต ชุกกลิ่น	ผ่านเกณฑ์ในระดับดีมาก	ผ่าน	
9	อ.สุนันทา ข้องสาย	คู่มือปฏิบัติการเคมี 2	ผศ.มาลินี จินนานนท์	ตำราเรื่อง ปฏิบัติการเคมี 2 ใช้ประกอบการเรียนการสอนในวิชาปฏิบัติการ เคมี 2 เป็นส่วนที่เสริมเนื้อหาทฤษฎีเคมี 2 ให้เข้าใจได้ง่ายขึ้น เป็นตำราที่ อยู่ในระดับดีมาก สามารถนำไปใช้ในการเรียนการสอน การอ้างอิงได้	ผ่าน	
			ผศ.ดร.เพ็ญศรี เพ็ญประไพ	ตำราเรื่อง ปฏิบัติการเคมี 2 มีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์ดีมาก เป็นงานที่ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ และก่อให้เกิดการพัฒนาการเรียนการสอนใน สาขาวิชาเคมีได้เป็นอย่างดี	ผ่าน	
			ผศ.สุภามาส อินทฤทธิ์	มีเนื้อหาครบถ้วน ถูกต้องเหมาะสมใช้เป็นคู่มือในการเรียนการสอนได้ดีมาก	ผ่าน	



ปฏิบัติการเคมีเบื้องต้น รหัสวิชา 02-022-001
(Introductory Chemistry Laboratory)
ปฏิบัติการเคมีพื้นฐาน รหัสวิชา 02-221-001
(Fundamental Chemistry Laboratory)



เรียบเรียงโดย ผศ. มานี ฉินนานนท์

สาขาวิทยาศาสตร์กายภาพ

โครงการผลิตตำรา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

คำนำ

ตำราปฏิบัติการเคมีฉบับนี้ ใช้ประกอบการเรียนการสอนใน วิชาเคมีเบื้องต้น รหัสวิชา 02-022-001 (Introductory Chemistry) และเคมีพื้นฐาน รหัสวิชา 02-221-001 (Fundamental Chemistry) ในส่วนของภาคปฏิบัติ ซึ่งมีเนื้อหาสาระเกี่ยวกับการศึกษาและฝึกทักษะการใช้อุปกรณ์ในการปฏิบัติการทางเคมี สามารถคำนวณเลขนัยสำคัญและความคลาดเคลื่อนในการทดลอง มีทักษะ ในการทดสอบสมบัติของธาตุและสารประกอบ สารละลาย ปฏิกริยาเคมีและ กรด เบส แก๊ส

ผู้เขียนได้รวบรวมการทดลองในเรื่องต่าง ๆ ให้นักศึกษาได้มีพัฒนาทักษะและจิตพิสัยในการปฏิบัติงานด้านการทดลองที่เป็นระบบและมีเจตคติที่ดีต่อการปัญหาโดยใช้กระบวนการทางวิทยาศาสตร์ หากในการทดลองเรื่องใดมีข้อควรแก้ไข ปรับปรุง กรุณาแจ้งผู้จัดทำได้ จักขอบพระคุณ

มาลินี ฉินนานนท์

สารบัญ

	หน้า
บทปฏิบัติการที่ 1 ข้อควรปฏิบัติในห้องปฏิบัติการเคมี	1
บทปฏิบัติการที่ 2 เทคนิคการทดลองในห้องปฏิบัติการเคมี	11
บทปฏิบัติการที่ 3 เลขนัยสำคัญและความคลาดเคลื่อน	23
บทปฏิบัติการที่ 4 สมบัติของธาตุและสารประกอบ	34
บทปฏิบัติการที่ 5 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน	40
บทปฏิบัติการที่ 6 ปฏิกิริยาเคมี	46
บทปฏิบัติการที่ 7 อัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมี	54
บทปฏิบัติการที่ 8 สมดุลเคมี	60
บทปฏิบัติการที่ 9 การหาค่า pH ของสารละลายและค่า K_a ของอินดิเคเตอร์	68
บทปฏิบัติการที่ 10 สารละลายบัฟเฟอร์และปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส	75
บรรณานุกรม	81

บทปฏิบัติการที่ 1

เรื่อง ข้อควรปฏิบัติในห้องปฏิบัติการเคมี

จุดประสงค์

1. เพื่อให้เกิดความปลอดภัยในการปฏิบัติการทดลอง
2. สามารถปฏิบัติตนได้ถูกต้อง เมื่อเกิดอุบัติเหตุในห้องปฏิบัติการ

การเรียนวิชาเคมีนอกจากจะเรียนภาคทฤษฎีแล้วจะต้องเรียนภาคปฏิบัติควบคู่กันไป ทั้งนี้เพื่อให้เกิดความเข้าใจในเนื้อหาเพิ่มมากขึ้น การเรียนภาคปฏิบัตินอกจากจะช่วยเสริมภาคทฤษฎีดังกล่าวแล้วยังช่วยฝึกนิสัยการทำงานอีกด้วย เช่นฝึกให้รู้จักการทำงานด้วยความรอบคอบ รู้จักคิด รู้จักตัดสินใจแก้ปัญหาด้วยตนเอง รู้จักคุณค่าในสิ่งที่ต้องการจะรู้และรู้จักทำงานด้วยความปลอดภัย เป็นต้น ด้วยเหตุนี้ การเรียนภาคปฏิบัติย่อมก่อให้เกิดประโยชน์ต่อผู้เรียนมากมาย เพราะเปิดโอกาสให้ทุกคนได้ฝึกฝนตัวเองและแสดงความสามารถพิเศษของตนออกมา

โดยทั่วไปแล้วการเรียนภาคปฏิบัติมักทำในห้องปฏิบัติการทดลองเสมอ เพื่อให้การทดลอง ได้ผลดี หรือมีความผิดพลาดน้อยที่สุดและเกิดความปลอดภัยต่อผู้ทดลองเอง จึงขอเสนอแนะข้อควรปฏิบัติทั่ว ๆ ไปในห้องปฏิบัติการดังต่อไปนี้

1. ต้องระลึกอยู่เสมอว่า ห้องปฏิบัติการทดลองเป็นสถานที่ทำงาน ต้องทำการทดลอง ด้วยความตั้งใจ อย่างจริงจัง
2. ต้องรักษาระเบียบบนโต๊ะปฏิบัติการ เพราะการทดลองจะผิดพลาดได้ง่ายถ้าบนโต๊ะ ปฏิบัติการไม่มีระเบียบ เช่น อาจหีบห่อทดลองผิด หรือในกรณีที่ทำสารหกจะต้องรีบทำความสะอาดทันที เครื่องแก้วหรืออุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองแล้วต้องล้างให้สะอาดแล้วเก็บเข้าตู้ เมื่อไม่ต้องการใช้ทดลองอีก นอกจากนี้การรักษาระเบียบบนโต๊ะปฏิบัติการ ยังสามารถช่วยลดอุบัติเหตุและยังเป็นการช่วยประหยัดเวลาในการค้นหาสิ่งของที่ต้องการอีกด้วย
3. ต้องอ่านคู่มือปฏิบัติการทดลองก่อนที่จะปฏิบัติการทดลองนั้น ๆ และพยายามทำความเข้าใจถึงขั้นตอนการทดลองให้แจ่มแจ้ง หากมีความสงสัยในตอนใด ๆ จะต้องถามอาจารย์ ผู้ควบคุมเสียก่อน ก่อนที่จะลงมือปฏิบัติการทดลอง การอ่านคู่มือปฏิบัติการทดลองมาก่อนที่จะปฏิบัติการทดลองนั้น นับว่ามีประโยชน์มาก เพราะจะช่วยประหยัดเวลาในการทดลองและผู้ทดลองจะทำการทดลองด้วยความเข้าใจ

4. ต้องไม่ทำการทดลองใด ๆ ที่นอกเหนือไปจากการทดลองที่มีไว้ในคู่มือปฏิบัติการ หรือ ที่ได้รับมอบหมายจากอาจารย์ผู้ควบคุมเท่านั้น แต่ถ้าต้องการทำการทดลองใด ๆ ที่นอกเหนือไปจากหนังสือคู่มือ หรือ ที่อาจารย์มอบหมาย จะต้องได้รับอนุญาตจากอาจารย์ผู้ควบคุมเสียก่อน

5. อุปกรณ์ต่าง ๆ ที่นำมาใช้ในการทดลองต้องสะอาด ความสกปรกเป็นปัจจัยสำคัญ ประการหนึ่งที่ทำให้ผลการทดลองผิดพลาด หรือคลาดเคลื่อนไปจากความเป็นจริง

6. อุปกรณ์หรือเครื่องมืออื่น ๆ เช่น สามขา ที่ยึดสายยาง ฯลฯ ที่นำมาใช้ในการทดลอง นั้น ๆ จะต้องนำไปเก็บไว้ที่เดิมหลังจากเสร็จสิ้นการทดลองแล้ว

7. ควรทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ ตามเวลาที่กำหนดให้เท่านั้น ไม่ควรทำงานในห้องปฏิบัติการเพียงคนเดียว เพราะเมื่อเกิดอุบัติเหตุขึ้นจะไม่มีใครทราบ และไม่อาจช่วยได้ทันทั่วถึง

8. เมื่อต้องการใช้สารละลายที่เตรียมไว้ ต้องรินออกจากขวดใส่ลงในบีกเกอร์ก่อน โดยรินออกมาประมาณเท่ากับจำนวนที่ต้องการจะใช้ อย่ารินออกมามากเกินไป เพราะจะทำให้สิ้นเปลืองสารโดยเปล่าประโยชน์ ถ้าสารละลายที่รินออกมาแล้วนี้เหลือให้เทส่วนที่เหลือนี้ลงในอ่าง อย่าเทกลับลงในขวดเดิมอีก ทั้งนี้เพื่อป้องกันการปะปนกัน

9. ถ้ากรดหรือด่างหรือสารเคมีที่เป็นอันตรายถูกผิวหนังหรือเสื้อผ้าต้องรีบล้างออกด้วย น้ำทันที เพราะมีสารเคมีหลายชนิดซึมผ่านเข้าไปในผิวหนังได้อย่างรวดเร็ว และเกิดเป็นพิษขึ้นมาได้ ซึ่งแต่ละคนจะมีความรู้สึกหรือเกิดพิษแตกต่างกัน

10. อย่าทดลองชิมสารเคมีหรือสารละลาย เพราะสารเคมีส่วนมากเป็นพิษอาจเกิด อันตรายได้นอกเสียจากจะได้รับคำสั่งจากอาจารย์ผู้ควบคุมให้ชิมได้

11. อย่าใช้มือหยิบสารเคมีใด ๆ เป็นอันตราย และพยายามไม่ให้ส่วนอื่น ๆ ของร่างกายถูก สารเคมีเหล่านี้ด้วย นอกเสียจากจะได้รับคำสั่งจากอาจารย์ผู้ควบคุมให้ปฏิบัติ

12. อย่าเทน้ำลงบนกรดเข้มข้นใด ๆ แต่ค่อย ๆ เทกรดเข้มข้นลงในน้ำอย่างช้า ๆ พร้อมกับกวนตลอดเวลา

13. เมื่อต้องการจะดมกลิ่นสารเคมี อย่างนำสารเคมีมาดมโดยตรง ควรใช้มือพัดกลิ่นสาร เคมีนั้นเข้าจมูกเพียงเล็กน้อย (อย่าสูดแรง ๆ) โดยถือหลอดที่ใส่สารเคมีไว้ห่าง ๆ

14. ออกไซด์ ของธาตุบางชนิดเป็นก๊าซพิษ เช่น ออกไซด์ของกำมะถัน ไนโตรเจนและ ก๊าซไฮโดรเจน ออกไซด์ของไฮโดรเจนซัลไฟด์ ก็เป็นก๊าซพิษเช่นเดียวกัน การทดลองใด ๆ ที่เกี่ยวข้องกับก๊าซเหล่านี้ควรทำในตู้ควัน

15. อย่าทิ้งของแข็งต่าง ๆ ที่ไม่ต้องการ เช่น ไม้ขีดไฟหรือกระดาษกรองที่ใช้แล้ว ฯลฯ ลงในอ่างน้ำ เป็นอันตราย ควรทิ้งในขยะที่จัดไว้ให้

16. อย่านำเข้าก้อน เช่น กระบอกลง กรวยแยก ไปให้ความร้อน เพราะจะทำให้ละลาย ใช้การไม่ได้
17. อย่านำปีกเกอร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการมาใช้ต้มน้ำดื่ม ถึงแม้ว่าจะสะอาดก็ตาม เพราะอาจมีสารเคมีตกค้างอยู่
18. หลังการทดลองแต่ละครั้งต้องล้างมือให้สะอาด โดยเฉพาะอย่างยิ่งก่อนกินอาหาร เพราะในขณะทำการทดลองอาจมีสารเคมีที่เป็นอันตรายติดอยู่ก็ได้
19. ห้ามสูบบุหรี่ในห้องปฏิบัติการ เพราะการสูบบุหรี่อาจทำให้สารที่ติดไฟง่ายติดไฟได้ หรืออาจทำให้อนุภาคของสารเคมีที่ระเหยกลายเป็นไอถูกเผาผลาญในขณะที่สูบบุหรี่ แล้วถูกดูดเข้าไปในปอด
20. อย่ากินอาหารในห้องปฏิบัติการ เพราะอาจมีสารเคมีปะปนกับอาหารที่รับประทาน เข้าไป เช่น อาจอยู่ในภาชนะที่ใส่อาหาร ภาชนะที่ใส่น้ำสำหรับดื่มหรือที่มีมือของท่าน ซึ่งสารเคมีบางชนิดอาจมีพิษหรือเป็นอันตรายต่อสุขภาพได้
21. เมื่อเสื่อผ้าที่สวมอยู่ติดไฟ อย่าวิ่ง ต้องพยายามดับไฟก่อนโดยนอนกลิ้งลงบนพื้น แล้วบอกให้เพื่อน ๆ ช่วยโดยใช้ผ้าหนา ๆ คลุมรอบตัวหรือใช้ผ้าเช็ดตัวที่เปียกคลุมบนเปลวไฟให้ดับก็ได้
22. เมื่อเกิดไฟไหม้ในห้องปฏิบัติการ จะต้องรีบดับตะเกียงในห้องปฏิบัติการให้หมด และ นำสารที่ติดไฟง่ายออกไปให้ห่างจากไฟมากที่สุด ซึ่งผู้ปฏิบัติการทดลองทุกคนควรจะต้องรู้แหล่งที่เก็บเครื่องดับเพลิงและรู้จักวิธีใช้ ทั้งนี้เพื่อสะดวกในการนำมาใช้ได้ทันทั่วทั้งที่
23. หากผู้ทดลองเกิดอุบัติเหตุในขณะที่ทำการทดลอง ต้องรายงานอุบัติเหตุที่เกิดขึ้นทุกครั้ง ต่ออาจารย์ผู้ควบคุม ไม่ว่าจะเกิดมากหรือน้อยเพียงใดก็ตาม
24. ก่อนนำเอาสารละลายในขวดไปใช้ จะต้องดูชื่อสารบนฉลากติดขวดสารละลายอย่างน้อยสองครั้งเพื่อให้แน่ใจว่าใช้สารที่ต้องการไม่ผิด
25. เมื่อจะใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายหรือสารที่ไวต่อปฏิกิริยาหรือสารที่มีกลิ่นเหม็น เช่น เบนโซอิลคลอไรด์ ฟอสฟอรัสไตรคลอไรด์ โบรมีน ฯลฯ จะต้องทำในตู้ควัน
26. ภาชนะแก้วที่ร้อนจะคล้ายกับภาชนะแก้วที่เย็น ดังนั้นควรให้เวลานานพอสมควรในการให้ภาชนะแก้วที่ร้อนเย็นลง
27. น้ำที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาเคมีจะต้องใช้น้ำกลั่นทุกครั้ง แต่อย่าใช้ฟุ่มเฟือยเกินความจำเป็น เช่น ใช้ล้างอุปกรณ์ เป็นต้น เพราะกว่าจะกลั่นได้ต้องใช้เวลาและค่าใช้จ่ายมาก
28. เมื่อใช้เครื่องควบแน่น อย่าให้น้ำเข้าเครื่องควบแน่นแรงนัก เพราะจะทำให้สูญเสียน้ำ ไปโดยเปล่าประโยชน์ ควรให้น้ำเข้าเครื่องควบแน่นเบา ๆ ก็ได้
29. ขณะต้มสารละลายหรือให้สารทำปฏิกิริยากันในหลอดทดลอง จะต้องหันปากหลอดทดลองออกห่างจากตัวเองและห่างจากคนอื่น ๆ ด้วย

30. การทดลองใด ๆ ที่ทำให้เกิดสัญญาณ ภาวะที่ไข้จะต้องหาพอที่จะทนต่อความดันภายนอกได้

31. ขวดบรรจุสารละลายหรืออุปกรณ์อื่นใดที่มีตัวทำละลายอินทรีย์บรรจุอยู่ อย่าใช้จุกยางปิดปากขวดเป็นอันตราย เพราะตัวทำละลายอินทรีย์กัดยางได้ทำให้สารละลายสกปรก และจะเอาจุกยางออกจากขวดได้ยาก เพราะจุกส่วนข้างล่างบวม

32. อย่าทิ้งโลหะโซเดียมที่เหลือจากการทดลองลงในอ่างน้ำ เพราะจะเกิดปฏิกิริยากับน้ำ อย่างรุนแรง จะต้องทำลายด้วยแอลกอฮอล์เสียก่อน แล้วจึงเททิ้งลงในอ่างน้ำ

33. เมื่อการทดลองใดใช้สารที่เป็นอันตราย หรือเป็นการทดลองที่อาจระเบิดได้ ผู้ทดลอง ควรสวมแว่นตานิรภัยเพื่อป้องกันอันตรายที่อาจเกิดขึ้น

34. เมื่อเสร็จสิ้นการทดลอง ต้องทำความสะอาดพื้นโต๊ะปฏิบัติการ ตรวจของในตู้และใต้ กุญแจให้เรียบร้อย แล้วล้างมือให้สะอาดก่อนออกจากห้องปฏิบัติการ

35. ฟังระลึกลักษณะของเสียง ต้องทำการทดลองด้วยความระมัดระวังที่สุด ความประมาท เลินเล่ออาจทำให้เกิดอันตรายต่อตัวเองได้

36. นักศึกษา ต้องบันทึกผลการทดลองทุกขั้นตอน เพื่อนำไปเป็นข้อมูลในการทำรายงานส่ง และให้ส่งบันทึกผลการทดลองในบทปฏิบัติการแก่อาจารย์ผู้ควบคุมทุกครั้ง

37. ให้ส่งรายงานการทดลอง หลังจากทำการทดลองไปแล้ว 1 สัปดาห์ (ส่งในชั่วโมงปฏิบัติการครั้งต่อไป) รูปแบบการเขียนรายงานต้องประกอบด้วย

- หัวข้อเรื่องการทดลอง
- ผู้ร่วมการทดลอง
- วันที่ทำการทดลอง
- จุดประสงค์การทดลอง
- วิธีการทดลอง
- บันทึกผลการทดลอง
- การคำนวณและแสดงผลด้วยกราฟ (ถ้ามี)
- สรุปผลการทดลอง
- ข้อเสนอแนะในการทดลอง
- ตอบคำถามท้ายบท(ถ้ามี)

การเกิดอุบัติเหตุและการแก้ไข

อุบัติเหตุอาจเกิดขึ้นได้ในห้องทดลอง หากผู้ทดลองทำด้วยความประมาทเลินเล่อหรือขาดความระมัดระวังขาดความเอาใจใส่ในเรื่องที่ทำการทดลอง ทางหนึ่งที่จะช่วยลดการเกิดอุบัติเหตุก็คือผู้ทำการทดลองจะต้องอ่านข้อควรปฏิบัติในห้องทดลองเสียก่อน และปฏิบัติตามอย่างเคร่งครัด การเกิดอุบัติเหตุในห้องทดลองนั้นมิได้หลายกรณี จะขอแยกกล่าวเป็นข้อ ๆ พร้อมทั้งวิธีแก้ไขดังนี้

1. ไฟไหม้ เนื่องจากการปฏิบัติการทางเคมีในห้องปฏิบัติการนั้นบางครั้งจะต้องใช้ ตะเกียงก๊าซด้วยการใช้ตะเกียงก๊าซนั้นหากเปลวไฟอยู่ใกล้กับสารที่ติดไฟง่ายหรือสารที่มีจุดวาบไฟต่ำ โอกาสที่จะเกิดไฟก็ยิ่งมากขึ้นด้วย จึงต้องทำการทดลองด้วยความระมัดระวังและไม่ให้สารที่ติดไฟง่ายอยู่ใกล้ไฟ

วิธีแก้ไขเมื่อเกิดอุบัติเหตุไฟไหม้ สิ่งแรกที่เราควรทำก็คือต้องรีบดับตะเกียงในห้องปฏิบัติการ ให้หมดแล้วนำสารที่ติดไฟง่ายออกจากห้องปฏิบัติการให้ห่างที่สุดเพื่อไม่ให้สารเหล่านี้ เป็นเชื้อเพลิงได้ ในกรณีที่เกิดไฟไหม้เล็กน้อย เช่น เกิดในบีกเกอร์หรือภาชนะแก้วอื่น ๆ ที่ใช้ในการทดลอง จะดับไฟที่เกิดขึ้นได้โดยใช้ผ้าขนหนูที่เปียกคลุม แต่ถ้าหากไฟลุกลามออกไปบนโต๊ะปฏิบัติการหรือเกิดในบริเวณกว้าง จะต้องใช้เครื่องดับเพลิงเข้าช่วยทันที

2. แก้วขาด เนื่องจากอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองส่วนใหญ่เป็นอุปกรณ์จำพวกเครื่องแก้ว ซึ่งแตกได้ง่าย ถ้าอุปกรณ์เหล่านี้แตกผู้ทดลองอาจถูกแก้วบาดได้ การเลียบหลอดแก้วหรือเทอร์โมมิเตอร์ลงในจุกยาง ถ้าหลอดแก้วหักอาจจะทิ่มแทงมือได้เช่นเดียวกัน จึงเห็นได้ว่าอันตรายที่เกิดจากแก้วขาดนั้นมีได้มาก ผู้ทดลองจะต้องระมัดระวังไม่ให้อุปกรณ์พวกแก้วแตกหรือหัก หากพบควรรีบเก็บกวาดโดยเร็วเพื่อป้องกันอันตรายที่เกิดขึ้น

วิธีแก้ไขเมื่อเกิดอุบัติเหตุแก้วขาด ก็ต้องทำการห้ามเลือดโดยเร็ว โดยใช้นิ้วมือหรือผ้าที่สะอาด กดลงบนแผลถ้าเลือดยังออกมากให้ยกส่วนที่เลือดออกสูงกว่าส่วนอื่น ๆ ของร่างกาย แล้วห้ามเลือดโดยใช้ผ้าหรือเชือกกระดะหว่างแผลกับหัวใจแต่ต้องคลายออกเป็นครั้งคราว จนเลือดหยุดไหล แล้วทำความสะอาดแผลด้วยแอลกอฮอล์ ใส่ยา ปิดแผล ถ้าหากแผลใหญ่และลึกควรรีบไปหาแพทย์ทันที

3. สารเคมีถูกผิวหนัง เราทราบแล้วว่า สารเคมีทุกชนิดมีอันตรายแต่อย่างน้อยแตกต่างกัน บางชนิดมีฤทธิ์กัดกร่อนต่อสิ่งของและเนื้อเยื่อเป็นอันตรายต่อผิวหนัง บางชนิดให้อาหารเป็นอันตรายต่อระบบหายใจ บางชนิดไวไฟเป็นพิษหรือระเบิดได้ บางชนิดสามารถซึมผ่านเข้าไปในผิวหนังทำให้เกิดอันตรายได้มากมาย ด้วยเหตุนี้ผู้ทดลองจึงไม่ควรให้สารเคมีถูกผิวหนังหรือเสื้อผ้า ถ้าทราบว่าถูกสารเคมี ไม่ว่าจะเป็นชนิดใดก็ตามจะต้องรีบล้างบริเวณนั้น ด้วยน้ำมาก ๆ ทันทีเพื่อไม่ให้สารเคมีมีโอกาสทำลายเซลล์ผิวหนังหรือซึมเข้าไปในผิวหนังได้

4. สารเคมีเข้าตา ขณะทำการทดลองหากก้มหรือมองใกล้เกินไป อาจทำให้ไอของสาร เข้าตาหรือ สารกระเด็นถูกตาได้

วิธีแก้ไขเมื่อเกิดอุบัติเหตุจากสารเคมีเข้าตาก็คือ จะต้องล้างตาด้วยน้ำจำนวนมาก ๆ ทันที พยายาม ลืมตาและกรอกตาในน้ำนาน ๆ ถ้าสารเคมีที่เป็นด่างเข้าตา เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ แอมโมเนีย ฯลฯ จะเป็นอันตรายต่อตามากกว่ากรด จะต้องรีบล้างตาด้วยสารละลายกรดโบริกที่เจือจาง ในกรณีที่กรดเข้าตาให้ ล้างด้วยสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตที่เจือจาง

5. การสูดไอหรือก๊าซพิษ เมื่อสูดไอของสารเคมีหรือก๊าซพิษ ซึ่งอาจเกิดขึ้นจากการ ทดลองหรือสาร ที่ใช้ในการทดลองก็ตาม ปกติจะมีอาการต่าง ๆ เกิดขึ้น เช่น วิงเวียน คลื่นไส้ หายใจขัด ปวดศีรษะ ฯลฯ ซึ่ง แล้วแต่พิษของสารเคมีนั้น ๆ หากไอนั้นกัดเนื้อเยื่อจะทำให้ระคายต่อระบบหายใจด้วย

วิธีแก้ไขก็คือ เมื่อทราบว่าคุณสมบัติของสารเคมี จะต้องรีบออกไปจากที่นั้นและไปอยู่ในที่ที่มี อากาศบริสุทธิ์ หากพบว่ามีผู้หายใจเอาก๊าซพิษเข้าไปมากจนหมดสติหรือช่วยตัวเองไม่ได้ จะต้องรีบนำ ออกมาที่นั่นทันที ซึ่งผู้เข้าไปช่วยต้องใส่หน้ากากป้องกันก๊าซพิษหรือใช้เครื่องช่วยหายใจ

6. การกลืนกินสารเคมี เนื่องจากอุปกรณ์บางอย่างผู้ทดลองใช้ปากดูด สารเคมีอาจเพิ่ง เข้าปากได้ หากสารเคมีนั้นเป็นสารพิษก็ย่อมจะเกิดอันตรายต่อผู้ทดลอง

วิธีแก้ไขเมื่อกลืนกินสารเคมีเข้าไปก็คือ จะต้องรีบล้างปากให้สะอาดเป็นอันดับแรก และ ต้องสืบให้ รู้ว่ากลืนสารอะไรลงไป ต่อจากนั้นก็ให้ดื่มน้ำหรือนมมาก ๆ เพื่อให้พิษเจือจาง แล้วทำให้อาเจียน โดยใช้น้ำกักโคลนล้นหรือกรอกไข่ขาวป้อนให้อาเจียนจนกว่าจะมีน้ำใส ๆ ออกมา

การป้องกันอุบัติเหตุในห้องปฏิบัติการ

อุบัติเหตุที่เกิดในห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่นั้น มีสาเหตุมาจากตัวบุคคลเป็นผู้กระทำด้วยความ ประมาทหรือความมกง่าย เช่น ไม่ปฏิบัติตามระเบียบคำสั่งและคำแนะนำหรือกระทำในสิ่งที่ไม่ได้รับอนุญาต จากอาจารย์ผู้ควบคุม การใช้อุปกรณ์หรือการติดตั้งอุปกรณ์ไม่เหมาะสมถูกต้องกับกระบวนการทดลอง หรือ ใช้อุปกรณ์ผิดประเภทก็ตามจะเกิดอุบัติเหตุขึ้นได้ นอกจากนี้การไม่ใช้เครื่องป้องกันอันตรายก็ถือว่า เป็น สาเหตุของการเกิดอุบัติเหตุด้วยเช่นเดียวกัน ดังนั้นหลักการป้องกันอุบัติเหตุในห้องปฏิบัติการที่สำคัญก็คือ จะต้องให้ความรู้ความเข้าใจแก่ผู้ทดลองเป็นประการสำคัญ ในเรื่องต่าง ๆ ดังนี้

1. การปฏิบัติตามระเบียบข้อบังคับหรือคำแนะนำ ระเบียบข้อบังคับต่าง ๆ ที่กำหนดไว้ใน การเข้า ห้องปฏิบัติการถือได้ว่าเป็นการป้องกันอุบัติเหตุได้ เพราะหากผู้ทดลองปฏิบัติตามระเบียบข้อบังคับแล้ว อุบัติเหตุก็จะไม่เกิดขึ้น ดังนั้นผู้ทดลองจึงควรปฏิบัติตามระเบียบข้อบังคับอย่างเคร่งครัดเพื่อป้องกันอันตราย

จากอุบัติเหตุตนเอง จึงเห็นได้ว่าระเบียบข้อบังคับต่าง ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเป็นสิ่งสำคัญมาก ผู้ควบคุมจะต้องเข้มงวดดูแลให้ทุกคนปฏิบัติตามระเบียบอย่างเคร่งครัด อันตรายที่เกิดขึ้นจากอุบัติเหตุก็จะน้อยลงหรือไม่เกิดขึ้นได้

2. ความเป็นระเบียบเรียบร้อยของห้องปฏิบัติการ ความเป็นระเบียบเรียบร้อยเช่นการจัด วางสิ่งของต่าง ๆ ให้เป็นหมวดหมู่ในที่ที่เหมาะสม นอกจากจะทำให้หาง่ายและหยิบใช้ไม่ผิดแล้วยังจะช่วยป้องกันอุบัติเหตุได้อีกทางหนึ่งด้วย ทั้งนี้เพราะการวางของเกะกะไม่เป็นระเบียบเรียบร้อย เวลาเดินอาจจะสะดุดหกล้มเป็นเหตุให้เกิดอุบัติเหตุได้ การตั้งเครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองก็เช่นเดียวกันควรตั้งให้อยู่ในบริเวณที่เหมาะสมมีความเป็นระเบียบเรียบร้อย ไม่กีดขวางการปฏิบัติการทดลอง

3. การให้ความรู้ความเข้าใจแก่ผู้ทดลอง เช่น ไม่ทราบว่สารสองชนิดนั้นผสมกันไม่ได้ เพราะจะทำให้เกิดการระเบิดอย่างรุนแรง แต่ผู้ทดลองก็นำมาผสมกัน จึงเกิดอุบัติเหตุขึ้น เพื่อแก้ปัญหาขึ้นจำเป็นจะต้องให้ความรู้ความเข้าใจแก่ผู้ทดลองด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเรื่องอันตรายของสารเคมี สารเคมีที่ผสมกันไม่ได้ สารเคมีที่ติดไฟง่าย ฯลฯ รวมทั้งวิธีปฏิบัติที่ถูกต้องเพื่อผู้ทดลองจะได้เพิ่มความระมัดระวังมากขึ้น จะเป็นทางหนึ่งที่จะช่วยป้องกันอุบัติเหตุจากการทดลองได้

4. จัดเตรียมอุปกรณ์ป้องกัน อุปกรณ์ป้องกันจะช่วยลดอุบัติเหตุในห้องปฏิบัติการได้ จึงจำเป็นจะต้องจัดเตรียมไว้ เช่น อุปกรณ์ดับไฟ อุปกรณ์ที่ช่วยป้องกันอันตรายที่เกิดกับร่างกาย ได้แก่ เสื้อคลุม หน้ากาก แวนนิรภัย ถุงมือ ฯลฯ เป็นต้น อุปกรณ์เหล่านี้ควรเก็บไว้ในที่ที่หยิบใช้ง่ายและอยู่ในสภาพดีเท่าที่กล่าวมานี้ถือได้ว่าเป็นส่วนหนึ่งที่จะช่วยป้องกันอุบัติเหตุในห้องปฏิบัติการได้ ซึ่งสาเหตุของอุบัติเหตุ นั้นมาจากบุคคลเป็นผู้กระทำดังกล่าวแล้ว ดังนั้นในการเข้าห้องปฏิบัติการใด ๆ ก็ตาม ขอให้ผู้ทดลองระลึกอยู่เสมอว่า ต้องทำการทดลองด้วยความระมัดระวังที่สุด ความประมาทเลินเล่อจะทำให้เกิดอันตรายต่อตัวเองได้

ข้อควรปฏิบัติเมื่อสารเคมีหก

เมื่อสารเคมีหกอาจเกิดอันตรายได้หากไม่ระมัดระวังให้ดี ทั้งนี้เพราะสารเคมีบางชนิด เป็นพิษต่อร่างกายเมื่อถูกกับผิวหนังหรือสูดดม บางชนิดติดไฟได้ง่าย ดังนั้นเมื่อสารเคมีหกจะต้องรีบเก็บกวาดให้เรียบร้อยทันที ต่อไปนี้จะกล่าวถึงข้อควรปฏิบัติเมื่อสารเคมีแต่ละชนิดหก

1. สารที่เป็นของแข็ง เมื่อสารเคมีที่เป็นของแข็งหก ควรใช้แปรงกวาดรวมกันใส่ในช้อนตัก หรือกระดาษแข็งก่อน แล้วจึงนำไปใส่ในภาชนะ

2. สารละลายที่เป็นกรด เมื่อกรดหกจะต้องรีบทำให้เจือจางด้วยน้ำก่อนแล้วโรย โซดาแอส หรือ โซเดียมไบคาร์บอเนตหรือเทสารละลายด่างเพื่อทำให้กรดเป็นกลางต่อจากนั้นจึงล้างด้วยน้ำให้สะอาด

ข้อควรระวัง เมื่อเทน้ำลงบนกรดเข้มข้นที่หก เช่น กรดกำมะถันเข้มข้น จะมีความร้อนเกิดขึ้นมาก และกรดอาจกระเด็นออกมา จึงควรค่อย ๆ เทน้ำลงไปมาก ๆ เพื่อให้กรดเจือจางและความร้อนที่เกิดขึ้น รวมทั้งการกระเด็นจะน้อยลง

3. สารละลายที่เป็นด่าง เมื่อสารเคมีที่เป็นด่างหกจะต้องเทน้ำลงไปเพื่อลดความเข้มข้นของด่าง แล้วเช็ดให้แห้ง โดยใช้ไม้ที่มีปุยฝ้ายที่ปลายสำหรับซับน้ำบนพื้น (Mop) พยายามอย่าให้กระเด็นขณะเช็ด เนื่องจากสารละลายด่างจะทำให้พื้นลื่น เมื่อล้างด้วยน้ำหลาย ๆ ครั้งแล้วยังไม่หายควรใช้ทรายโรยบริเวณที่ด่างหกแล้วเก็บกวาดทรายออกไป จะช่วยแก้ปัญหานี้ได้

4. สารที่ระเหยง่าย เมื่อสารเคมีที่ระเหยง่ายหกจะระเหยกลายเป็นไออย่างรวดเร็ว บางชนิดติดไฟได้ง่าย บางชนิดเป็นอันตรายต่อผิวหนังและปอด การทำความสะอาดที่ระเหยง่ายทำได้ดังนี้

4.1 ถ้าสารที่หกมีปริมาณน้อย ใช้ผ้าจี๊วหรือเศษผ้าเช็ดถูออก

4.2 ถ้าสารที่หกนั้นมีปริมาณมาก ทำให้แห้งโดยใช้ไม้ที่มีปุยฝ้ายที่ปลายสำหรับเช็ดถู เมื่อเช็ดแล้วก็นำมาใส่ถังเก็บและสามารถนำไปใช้อีกได้ตามต้องการ

5. สารที่เป็นน้ำมัน สารพวกนี้เช็ดออกได้โดยใช้น้ำมาก ๆ เมื่อเช็ดออกแล้วพื้นบริเวณที่ สารหกจะลื่น จึงต้องล้างด้วยผงซักฟอกอีกครั้งหนึ่ง เพื่อให้สารที่ติดอยู่ออกไปให้หมด



การเก็บสารปรอทที่หกโดยไม่ใช้เครื่องดูด

ที่มา: ประเสริฐ ศรีไพโรจน์ ,2538

6. สารปรอท เนื่องจากสารปรอท ไม่ว่าจะอยู่ในรูปใด

ล้วนเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตทั้งสิ้น เพราะทำอันตรายต่อระบบประสาท ทำให้มีอาการทางประสาท เช่น กล้ามเนื้อเต้น มึนงง ความจำเสื่อม ถ้าได้รับเข้าไปมาก ๆ อาจทำให้แขนขาพิการหรือถึงตายได้ ดังนั้น

การทดลองใดที่เกี่ยวข้องกับสารปรอทต้องใช้ความระมัดระวังให้มาก ในกรณีที่สารปรอทหกวิธีการที่ถูกต้องควรปฏิบัติดังนี้

6.1 กวาดสารปรอทมากองรวมกัน

6.2 เก็บสารปรอทโดยใช้เครื่องดูด

6.3 ถ้าพื้นที่สารปรอทหกรอยแตกหรือรอยร้าว จะมีสารปรอทเข้าไปอยู่ข้างใน จึงไม่สามารถเก็บปรอทโดยใช้เครื่องดูดดังกล่าวได้ ควรปิดรอยแตกหรือรอยร้าวด้วยขี้ผึ้งทาพื้น หนา ๆ เพื่อกันระเหยของปรอทหรืออาจใช้ผงกำมะถันพรมลงไป ปรอทจะเปลี่ยนเป็นสารประกอบซัลไฟด์ แล้วเก็บกวาดอีกครั้งหนึ่ง

สารเคมีอันตราย...คืออะไร

สารเคมีอันตราย วัตถุอันตราย สารอันตราย หมายถึง ธาตุ หรือสาร ประกอบ ที่มีคุณสมบัติเป็นพิษหรือเป็นอันตรายต่อมนุษย์ สัตว์ พืช และทำให้ทรัพย์สินและสิ่งแวดล้อมเสื่อมโทรม สามารถจำแนกได้ 9 ประเภท ดังนี้

ประเภทที่ 1 วัตถุระเบิด

ประเภทที่ 2 ก๊าซ

ประเภทที่ 3 ของเหลวไวไฟ

ประเภทที่ 4 ของแข็งไวไฟ

ประเภทที่ 5 วัตถุออกซิไดส์และออร์แกนิกเปอร์ออกไซด์

ประเภทที่ 6 วัตถุมีพิษและวัตถุติดเชื้อ

ประเภทที่ 7 วัตถุกัมมันตรังสี

ประเภทที่ 8 วัตถุกัดกร่อน

ประเภทที่ 9 วัตถุอื่นๆ ที่เป็นอันตราย

ทราบว่าเป็นสารอันตรายได้อย่างไร

เราสามารถทราบว่าเป็นสารเคมีที่พบเป็นสารอันตรายหรือไม่ และก่อให้เกิดอันตรายได้อย่างไร โดยการสังเกตฉลากหรือเครื่องหมาย ซึ่งเป็นเครื่องหมายสากล ที่ติดบนภาชนะบรรจุ ถังเหล็ก แท็งก์ หรือป้ายที่ติดบนรถยนต์หรือรถบรรทุก ดังนี้



วัตถุระเบิด: ระเบิดได้เมื่อถูกกระแทกเสียดสี หรือความร้อน เช่น ทีเอ็นที ดินปืน พลุไฟ ดอกไม้ไฟ



ก๊าซไวไฟ: ติดไฟง่ายเมื่อถูกประกายไฟ เช่น ก๊าซหุงต้ม ก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซมีเทน ก๊าซอะเซทิลีน



ก๊าซไม่ไวไฟ, ไม่เป็นพิษ :

อาจเกิดระเบิดได้ เมื่อถูกกระแทกอย่างแรง หรือได้รับความร้อนสูงจากภายนอก เช่น ก๊าซออกซิเจน ก๊าซไนโตรเจนเหลว ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์



ก๊าซพิษ : อาจตายไปเมื่อสูดดม เช่น ก๊าซคลอรีน ก๊าซแอมโมเนีย ก๊าซไฮโดรเจนคลอไรด์



ของเหลวไวไฟ : ติดไฟง่ายเมื่อถูกประกายไฟ เช่น น้ำมันเชื้อเพลิง ทินเนอร์ อะซิโตน ไซลีน



ของแข็งไวไฟ : ติดไฟง่ายเมื่อถูกเสียดสี หรือความร้อนสูงภายใน 45 นาที เช่น ผงกำมะถัน ฟอสฟอรัสแดง ไม้ขีดไฟ



วัตถุที่ถ่วงน้ำแล้วให้ก๊าซไวไฟ : เช่น แคลเซียมคาร์ไบด์ โซเดียม



วัตถุที่เกิดการลุกไหม้ได้เอง :

ติดไฟได้เมื่อสัมผัสกับอากาศภายใน 5 นาที เช่น ฟอสฟอรัสขาว ฟอสฟอรัสเหลือง โซเดียมซิลไฟด์



วัตถุออกซิไดส์ : ไม่ติดไฟแต่ช่วยให้สารอื่นเกิดการลุกไหม้ได้ คึกขึ้น เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โพแทสเซียมคลอเรต แอมโมเนียมไนเตรท



ออร์แกนิกเปอร์ออกไซด์ : อาจเกิดระเบิดได้เมื่อถูกความร้อน ไวต่อการกระทบและเสียดสีทำปฏิกิริยารุนแรงกับสารอื่น ๆ เช่น อะซิโตน เปอร์ออกไซด์



วัตถุติดเชื้อ : วัตถุที่มีเชื้อโรคปนเปื้อนและทำให้เกิดโรคได้ เช่น ของเสียอันตรายจากโรงพยาบาล เข็มฉีดยาที่ใช้แล้ว เชื้อโรคต่างๆ



วัตถุมีพิษ : อาจทำให้เสียชีวิตหรือบาดเจ็บอย่างรุนแรงจากการกิน การสูดดม หรือจากการสัมผัสทางผิวหนัง เช่น อาร์ซีนิก ไซนาไนด์ ปรีท สารฆ่าแมลง สารปราบศัตรูพืช โลหะหนักเป็นพิษ



วัตถุกัมมันตรังสี : วัตถุที่สามารถให้รังสีที่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต เช่น โคบอลต์ เรเดียม



วัตถุกัดกร่อน : สามารถกัดกร่อนผิวหนังและเป็นอันตรายต่อระบบทางเดินหายใจ เช่น กรดเกลือ กรดกำมะถัน โซเดียม ไฮดรอกไซด์ แคลเซมไฮโปคลอไรต์

ที่มา :

www.myfirstbrain.com

บทปฏิบัติการที่ 2

เรื่อง เทคนิคการทดลองในห้องปฏิบัติการเคมีด้วยอุปกรณ์พื้นฐาน

จุดประสงค์

1. ฝึกการเลือกใช้อุปกรณ์การทดลองให้เหมาะสมกับงาน
2. ฝึกเทคนิคการทดลองขั้นพื้นฐานได้ถูกต้อง

หลักการ

การทดลองทางเคมีในห้องปฏิบัติการ จำเป็นต้องมีรูปแบบและวิธีการที่ควรยึดถือและนำไปปฏิบัติ ดังนี้ คือการกำหนดปริมาณสารที่ใช้ในการ การเลือกใช้อุปกรณ์ที่จะนำมาใช้วัดปริมาณ หรือเลือกมาเป็น ภาชนะที่ใช้ในการทดลองได้ถูกต้องและเหมาะสม การทำการทดลองอย่างมีประสิทธิภาพ มีผลการทดลอง ที่มีความน่าเชื่อถือ รวมไปถึงวิธีการทดลอง ที่ผู้ทดลองกระทำด้วยความไม่ประมาทจะสามารถควบคุม อันตรายไม่ให้เกิดกับผู้ทดลองได้ อุปกรณ์พื้นฐานที่ใช้ในการทดลองทางเคมีมีหลายประเภททั้งอุปกรณ์ เครื่องแก้ว เช่น ถ้วยริน (Beaker) ขวดรูปชมพู่ แท่งแก้วคน หลอดหยด กระจกบด ทongs หลอด ทดลอง ฯลฯ ดังนั้นเทคนิคการทดลองรวมไปถึงการใช้เครื่องมือทางอิเล็กทรอนิกส์แต่ละชนิดจะมีลำดับ ขั้นตอนและวิธีการเฉพาะ ซึ่งผู้ทดลองจะฝึกใช้ให้ถูกต้องจนกระทั่งเกิดความแม่นยำและชำนาญ

เทคนิคการชั่งสาร

การหาปริมาณของสารซึ่งอยู่ในสถานะของแข็ง นิยมระบุเป็นน้ำหนักซึ่งอุปกรณ์ที่ใช้คือเครื่องชั่ง ในงานทดลองทางวิทยาศาสตร์เครื่องชั่งที่ใช้จะมีอยู่ 2 ลักษณะ คือ เครื่องชั่งที่ใช้หลักเครื่องกล เช่น เครื่องชั่งมีแขน (Triple Beam Balance) และเครื่องชั่งไฟฟ้า (Analytical Balance) ซึ่งชนิดที่สองในปัจจุบันได้พัฒนาให้ชั่งน้ำหนักที่มีความละเอียดถึงระดับไมโครกรัม (10^{-6} กรัม) การชั่งสารเครื่องชั่งไฟฟ้า ผู้ทดลองต้องศึกษา วิธีการใช้เครื่องชั่งไฟฟ้าแต่ละเครื่องได้จากคู่มือให้เข้าใจ และปฏิบัติตามวิธีการที่ เครื่องชั่งนั้นๆ กำหนดให้



รูปที่ 2.1 เครื่องชั่งไฟฟ้า



รูปที่

2.2 เครื่องชั่งแบบมีแขน

ที่มา : <http://web.ku.ac.th/schoolnet/snet5/tbalance.html>

หลักการชั่งสารโดยทั่วไป ผู้ชั่งควรปฏิบัติดังนี้

1. ต้องนั่งอยู่ด้านหน้าเครื่องชั่งและอยู่ในตำแหน่งตรงกลาง
2. เครื่องชั่งที่ใช้ต้องวางอยู่บนพื้นที่ได้ระดับ และมีความมั่นคงไม่สั่นสะเทือนง่าย เช่น บนโต๊ะหรือเคาน์เตอร์ที่ทำด้วยคอนกรีตเสริมเหล็ก
3. ต้องไม่ชั่งวัตถุที่ร้อนจัดหรือเย็นจัด และมีน้ำหนักเกินความสามารถของเครื่องชั่ง
4. ต้องไม่วางสารเคมีบนจานเครื่องชั่งโดยตรง ต้องมีภาชนะรองรับเพราะสารเคมีบางชนิดมีฤทธิ์กัดกร่อนจะกัดกร่อนจานเครื่องชั่งทำให้เกิดความเสียหายซึ่งจะมีผลต่อความแม่นยำในการชั่ง

การใช้เครื่องชั่งแบบ (Triple-beam balance) มีวิธีการดังนี้

1. ตั้งเครื่องชั่งให้อยู่ในแนวระนาบ แล้วปรับให้แขนของเครื่องชั่งอยู่ในแนวระนาบโดยหมุนสกรูให้เข็มชี้ตรงขีด 0
2. วางขวดบรรจุสารบนจานเครื่องชั่ง แล้วเลื่อนตุ้มน้ำหนักบนแขนทั้งสามเพื่อปรับให้เข็มชี้ตรงขีด 0 อ่านน้ำหนักบนแขนเครื่องชั่งจะเป็นน้ำหนักของขวดบรรจุสาร
3. ถ้าต้องการชั่งสารตามน้ำหนักที่ต้องการก็บวกน้ำหนักของสารกับน้ำหนักของขวดบรรจุสารที่ได้ในข้อ 2 แล้วเลื่อนตุ้มน้ำหนักบนแขนทั้ง 3 ให้ตรงกับน้ำหนักที่ต้องการ
4. เติมสารที่ต้องการชั่งลงในขวดบรรจุสารจนเข็มชี้ตรงขีด 0 พอดี จะได้น้ำหนักของสารตามต้องการ
5. นำขวดบรรจุสารออกจากจานของเครื่องชั่งแล้วเลื่อนตุ้มน้ำหนักทุกอันให้อยู่ที่ 0 ทำความสะอาดเครื่องชั่งหากมีสารเคมีหกบนจานหรือรอบๆ เครื่องชั่ง

หมายเหตุ การหาน้ำหนักของสารอาจหาน้ำหนักทั้งขวดบรรจุสารและสารรวมกันก่อนก็ได้ แล้วชั่งขวดบรรจุสารอย่างเดียวทีหลัง ต่อจากนั้นก็เอาน้ำหนักทั้ง 2 ครั้งลบกัน ผลที่ได้จะเป็นน้ำหนักของสารที่ต้องการ

การใช้งานเครื่องชั่งดิจิตอล หรือเครื่องชั่งไฟฟ้า

1. ก่อนใช้งานเครื่องชั่งทุกครั้งต้องดูว่าระดับลูกน้ำของเครื่องชั่งอยู่ตรงกลางวงกลมหรือเปล่า ถ้ายังไม่อยู่ ควรปรับทันที
2. เปิดเครื่องชั่งอุ่นเครื่องประมาณ 20-30 นาทีก่อนใช้งานทุกครั้ง

3. ควรหมั่นตรวจสอบเครื่องชั่งบ้าง สักเดือนละครั้ง โดยใช้ตุ้มน้ำหนักมาตรฐานมาวางทดสอบบนเครื่องชั่ง สังเกตดูว่าเครื่องชั่งอ่านน้ำหนักได้ถูกต้องหรือเปล่า ถ้าไม่ได้ตาม spect ของเครื่องชั่ง ก็ควร calibrate เครื่องชั่งใหม่

4. ในกรณีที่มีสารเคมีหกใส่บนเครื่องชั่ง ให้เอาผ้าชุบน้ำ หรือ แปรงขนอ่อน ทำความสะอาดทันที

5. ในการวางภาชนะเพื่อต้องการหาค่าภาชนะ ควรวางลงบนจานเครื่องชั่งด้วยความระมัดระวัง ห้ามวางกระแทกเด็ดขาด เพราะอาจทำให้ระบบแม่กลานิกส์เสียได้

6. หลังจากใช้งานเครื่องชั่งแล้ว ต้องการปิดเครื่อง ถ้ายังมีน้ำหนักค้างอยู่ ให้ กด ปุ่ม 0 เคลียร์หน้าจอให้หมด แล้วจึงปิดเครื่องชั่ง

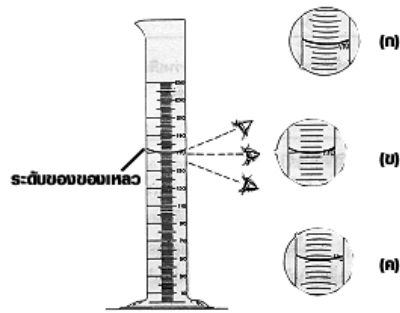
7. หลังจากปิดเครื่องชั่งแล้ว ห้ามเอาสิ่งของวางไว้บนจานชั่ง

เทคนิคการตวง

การตวงสารเป็นการหาปริมาณสารที่มีสถานะเป็นของเหลว อุปกรณ์ที่ใช้ตวงสารโดยทั่วไปได้แก่ กระจกบอกตวง ปิเปต หลอดนิตยา และบิวเรต อุปกรณ์แต่ละชนิดจะมีขนาดต่างๆ กัน การเลือกใช้อุปกรณ์ในการตวงขึ้นอยู่กับความต้องการว่าต้องการผลการทดลองที่มีความละเอียดเพียงใด วิธีการใช้อุปกรณ์แต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันซึ่งขึ้นอยู่กับรูปแบบการตวงแต่ละชนิด ซึ่งจะได้อธิบายวิธีการตวง ด้วยอุปกรณ์ชนิดต่างๆ ดังนี้

การใช้กระบอกตวง

1. วางกระบอกตวงขนาดที่ต้องการวางบนพื้นโต๊ะที่ราบในแนวระดับ
2. สารละลายที่จะตวงควรถ่ายออกใส่ถ้วยรินก่อนแล้วจึงรินใส่กระบอกตวงจนเกือบถึงขีดปริมาตรที่ต้องการ
3. ก้มให้ระดับสายตาอยู่ขีดเดียวกับปริมาตรที่ต้องการแล้วใช้หลอดหยดค่อยๆ หยดสารละลายลงไปกระทั่งส่วนโค้งของสารละลาย ตรงกับขีดปริมาตรที่ต้องการ ไม่ควร ใช้มือยกกระบอกตวงขึ้นมาตรงกับระดับสายตา แล้วรินสารใส่กระบอกตวงจนถึงขีดปริมาตรที่ต้องการเป็นเด็ดขาด เพราะปริมาตรสารที่ตวงได้ จะผิดพลาดเนื่องจากถือกระบอกตวงไม่ได้อยู่ในแนวระดับ
4. กระบอกตวงมีอยู่หลายขนาด การเลือกใช้กระบอกตวงควรเลือกขนาดเดียวกับปริมาตรที่ต้องการวัด ถ้าไม่มีควรเลือกขนาดที่ใกล้เคียงมากที่สุด และใช้การตวงเพียงครั้งเดียวจะได้เกิดข้อผิดพลาดน้อยกว่าตวงหลายๆ ครั้ง

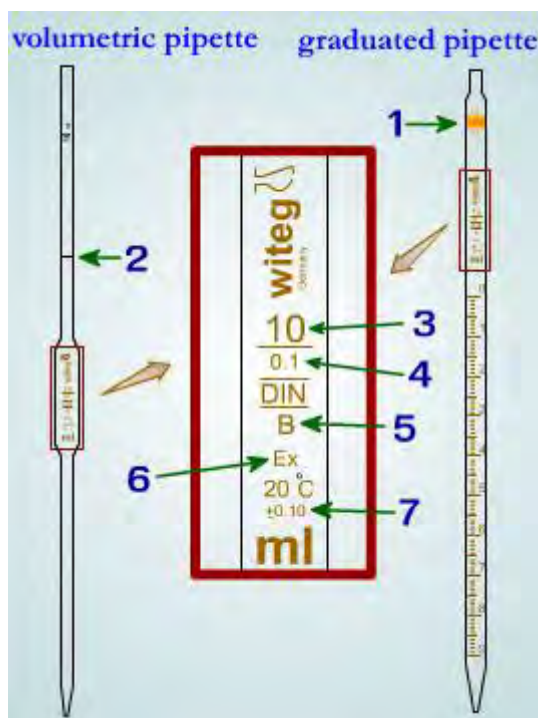


รูปที่ 2.3 การดูปริมาตรของสาร

ที่มา : Beran (1993)

การใช้ปิเปต

ปิเปตเป็นอุปกรณ์ตวงสารละลายที่มีความละเอียดและให้ผลตวงแม่นยำกว่ากระบอกตวง โดยทั่วไปปิเปตที่ใช้ในห้องปฏิบัติการจะมีอยู่ 2 แบบ คือ Volumetric หรือ Transfer Pipette กับ Measuring Pipette หรือ Graduate Pipette (ดังรูป)



รายละเอียดที่เขียนบนปิเปต

1. สัญลักษณ์ Blow-out pipet
2. จี๊ดบอกปริมาตร
3. ความจุ
4. ปริมาตรแต่ละจี๊ด
5. ระดับชั้นคุณภาพ
6. วัสดุประสงค์การใช้งาน
7. ความคลาดเคลื่อนของปริมาตร

รูปที่ 2.4 ปิเปต

ที่มา : <http://vet.kku.ac.th/physio/labbiochem/16/home.html>

1. ชนิดที่ใช้วัดปริมาตร (volumetric pipet หรือ transfer pipet) เป็นปิเปตที่มีปริมาตรเพียงค่าเดียวที่มีความแน่นอน ดังนั้น การใช้งานจึงเหมาะสมกับการตรวจสอบที่มีปริมาตรตามที่กำหนดไว้เท่านั้น

2. ชนิดที่ใช้ถ่ายเทของเหลว (graduate pipet หรือ measuring pipet) เป็นปิเปตที่มีการแบ่งสเกลบอกปริมาตรต่างๆ ไว้ ดังนั้นการใช้งานจึงใช้กว้างกว่า Volumetric Pipette

ไม่ว่าจะเป็นปิเปตชนิดใด เทคนิคการใช้งานจะไม่แตกต่างกันซึ่งมีลำดับ ขั้นตอน ดังต่อไปนี้

1. ปิเปตที่นำมาใช้ต้องสะอาดด้วยการล้างด้วยน้ำกลั่นระเหยหลายๆ ครั้ง (สังเกตว่า ปิเปตจะสะอาดหรือไม่ จากการพิจารณาหยดน้ำถ้าไม่มีหยดน้ำเกาะภายในปิเปตแสดงว่าสะอาดแล้ว)

2. ก่อนจะวัดปริมาตรของสารละลายหรือสารที่อยู่ในรูปของเหลวใดๆ ควรล้างปิเปตนั้นด้วย สารนั้น 2-3 ครั้ง

3. ดูดสารละลายที่ต้องการวัดโดยใช้ลูกยางสวมส่วนบนของปิเปต จุ่มปลายล่างของปิเปตได้สารละลาย การดูดสารให้ค่อยๆ ดูดอย่างช้าๆ จนเหนือขีดปริมาตรที่ต้องการวัด นำลูกยางออกแล้วใช้นิ้วชี้ปิดปลายปิเปตให้แน่นและใช้นิ้วทั้ง 4 ที่เหลือจับก้านปิเปต

4. ค่อยๆ ขยับนิ้วชี้เพื่อให้อากาศเข้ามาไล่ของเหลวส่วนที่เหลือขีดปริมาตรจนถึงขีดที่ต้องการ (พิจารณาจากส่วนโค้งของสารละลายพอดีกับขีด) ปิดนิ้วชี้ให้แน่นแล้วถ่ายสารละลายสู่ภาชนะที่เตรียมไว้ปล่อยให้สารละลายหยดสุดท้ายไหลลงไป

ข้อควรระวัง

1. ไม่ควรใช้ปากดูดปิเปตแทนการดูดด้วยลูกยางเพราะสารเคมีอาจไหลเข้าปาก จะทำให้เกิดอันตรายต่อผู้ทดลอง

2. ไม่ควรใช้การเป่าเพื่อไล่สารละลายที่อยู่ในปิเปต

3. ขณะปรับปริมาตรต้องระวังไม่ให้มีฟองอากาศอยู่ภายในเพราะอาจทำให้ปริมาตรที่ต้องการวัดผิดพลาด

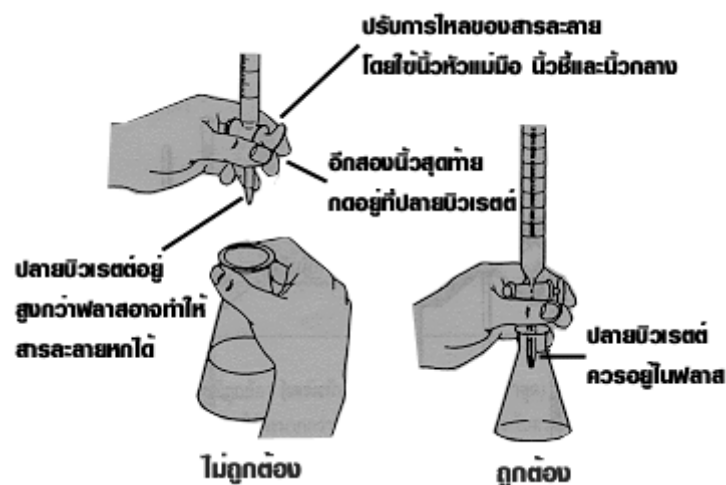
4. ขณะดูดต้องจุ่มปลายปิเปตในสารละลายเพราะถ้าปิเปตอยู่เหนือสารละลาย ๗ นั้นจะฟุ้งเข้าลูกยางทันที

5. เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองควรล้างทำความสะอาดทันทีด้วยน้ำสะอาดและน้ำกลั่นหรือถ้าต้องการให้ปิเปตสะอาดให้ลงในสารละลายที่เรียกว่า Cleaning Solution ซึ่งเป็นสารละลายที่ได้จากการละลาย $K_2Cr_2O_7$ จำนวน 5 กรัม ในกรดกำมะถันเข้มข้นปริมาตร 1 ลิตร แล้วจึงนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นสะอาดอีกครั้งหนึ่ง

การใช้บิวเรต

บิวเรต (Burette) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ระบุปริมาตรที่แน่นอนของสารในการเข้าทำปฏิกิริยากับอีกสารหนึ่ง บิวเรตใช้ในเทคนิคกระบวนการไทเทรต (Titration) ซึ่งเป็นเทคนิคการทดลองทางด้านปริมาณวิเคราะห์ วิธีการใช้บิวเรตมีลำดับขั้นดังนี้

1. ก่อนใช้ต้องล้างบิวเรตให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น (หลังจากใช้น้ำยาทำความสะอาดและล้างออกด้วยน้ำหลายๆ ครั้ง)
2. ล้างด้วยสารละลายที่ต้องการวัด 2–3 ครั้ง
3. เทสารละลายที่ต้องการใช้ทำปฏิกิริยาและต้องการทราบปริมาตรที่แน่นอนใส่ในบิวเรต (ต้อง ปิดก๊อกที่อยู่ด้านปลายของบิวเรตก่อน) โดยให้อยู่เหนือขีดบอกปริมาตรแล้วปรับสารละลายให้มีปริมาตรเท่ากับที่ขีดกำหนดให้พอดีและ ต้องไม่ให้ มีฟองอากาศเหลืออยู่)
4. ถ้าปลายบิวเรตมีหยดสารละลายติดอยู่ เอาออกได้ด้วยการแตะปลายบิวเรต กับปิกเกอร์
5. การใช้บิวเรตในกระบวนการไทเทรตต้องมีวิธีจับดังรูป



รูปที่ 2.5 การใช้บิวเรต

ที่มา : ประเสริฐ ศรีไพโรจน์, 2538

บิวเรตขนาด 10 มล. มีความผิดพลาด 0.4%

บิวเรตขนาด 25 มล. มีความผิดพลาด 0.24%

บิวเรตขนาด 50 มล. มีความผิดพลาด 0.2%

บิวเรตขนาด 100 มล. มีความผิดพลาด 0.2%

ข้อควรระวัง

ส่วนประกอบที่เป็นก๊อปปิด – เปิดนั้น ต้องล้างให้สะอาดแล้วทาด้วยวาสลินเมื่อเลิกใช้งานแล้วเพื่อป้องกันไม่ให้ก๊อปปิดติดแน่นกับส่วนของบิวเรต

การต้มของเหลวในหลอดทดลอง

1. ของเหลวนั้นที่ต้มไม่ควรเกินครึ่งหลอด (1 ใน 3)
2. เอียงหลอดที่ต้มเล็กน้อยเพื่อให้ของเหลวในหลอดมีพื้นที่รับความร้อนได้มาก
3. ควรหันปากหลอดในทิศทางที่ไม่มีคน เพราะของเหลวอาจกระเด็นออกขณะเดือด
4. ควรใช้ที่จับหลอด ไม่ควรจับด้วยมือโดยตรง

การเทของเหลวหรือสารละลายออกจากขวดเพื่อนำมาใช้

1. อ่านคู่มือข้างขวดว่าใช้สารละลายที่เราต้องการหรือไม่
2. ห้ามเทสารเคมี ที่อันตรายลงในกระบอกตวง หรือลงในหลอดทดลอง โดยตรง ควร

ถ่ายเทใส่ภาชนะอื่นที่มีขนาดเล็ก เช่น ถ้วยริน (Beaker) ก่อน

3. การวางจุกขวดสารเคมี ควรวางในบริเวณที่สะอาดมีภาชนะรองรับ หรือไม่เช่นนั้นก็ถือไว้โดยคิบบจุกระหว่างนิ้ว
4. เมื่อรินสารเคมีได้ปริมาณตามต้องการแล้วตะปากลวดสารเคมีกับภาชนะที่รับสารละลาย เพื่อป้องกันสารเคมีบางส่วนไหลเปื้อนข้างขวดด้านนอก
5. ปิดจุกขวดทันที และอย่าหลงลืมวางจุกขวดไว้บนโต๊ะอย่างเด็ดขาด

การผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

1. การผสมสารละลายในหลอดทดลองอาจใช้วิธีคนด้วยแท่งแก้วคนหรือใช้วิธีเขย่าหลอด โดยการเคาะหลอดทดลองกับฝ่ามือเบาๆ ไม่สมควรใช้นิ้วหัวแม่มือปิดปากหลอดแล้วผสมโดยคว้า - หายหลอด ทั้งนี้เพราะสารเคมีบางชนิด อาจมีอันตรายต่อผิวหนังได้
2. การผสมสารละลายในถ้วยรินโดยทั่วไปจะใช้แท่งแก้วคนในการผสมสารละลายหรืออาจใช้วิธีหมุนให้สารละลายหมุนไปทางเดียวกัน (ถ้าปริมาณของสารละลายที่ผสมนั้นมีปริมาณน้อย)
3. การผสมสารละลายในขวดรูปชมพู่ ไม่ใช้วิธีเขย่าแต่ใช้วิธีหมุนขวด การหมุนภาชนะ ผสมสารให้ใช้มือจับภาชนะแล้วหมุนข้อมือ

การกรอง

การกรองเป็นการแยกของแข็งออกจากของเหลว ของแข็งที่กรองได้เรียกว่า Residue ส่วนสารละลายจากการกรองเรียกว่า Filtrate เทคนิคการกรองโดยทั่วไปแบ่งได้ดังนี้

1. การกรองโดยอาศัยแรงดึงดูดของโลก
2. การกรองภายใต้สุญญากาศ

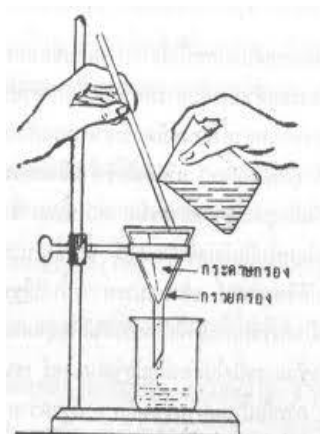
การกรองโดยอาศัยแรงดึงดูดของโลก นิยมใช้กระดาษกรองเป็นตัวกรอง การเลือกกระดาษกรองให้เหมาะสมกับขนาดอนุภาคที่ต้องการกรองมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งกระดาษกรองที่นำมาใช้กรองนั้นให้พับเป็นทบ $\frac{1}{2}$ ของวงกลม และให้ปลายที่พับทบกันนั้นแหลมกันเล็กน้อย ฉีกมุมหนึ่งของกระดาษกรองออก แล้วคลี่กระดาษกรองใส่กรวยแก้ว ความสูงของกระดาษกรองควรต่ำกว่าปากกรวยแก้วเล็กน้อย ฉีดน้ำกลั่นจนกระดาษกรองเปียกทั่วกัน ทำให้กระดาษกรองเปียกแนบสนิทกับกรวยแก้ว ทั้งนี้เพื่อความรวดเร็วในการกรอง

ในการพับกระดาษกรอง นอกจากจะพับเป็น $\frac{1}{4}$ ของวงกลมแล้ว อาจจะใช้การพับแบบมีร่องก็ได้

การกรองภายใต้สุญญากาศ เป็นการกรองที่รวดเร็วและสะดวก กรวยที่ใช้กรองทำด้วยกระเบื้องเคลือบมีรูพรุน เรียกรวยชนิดนี้ว่า กรวยบุชเนอร์ (Buchner Fannel) ขนาดของกระดาษที่ใช้ต้องพอดีแนบกับก้นของกรวย สวมกรวยกับภาชนะเฉพาะเรียกว่าขวดกรวย Suction Flask โดยมีจุกยางรองก้นแขนของขวดกรองไปต่อกับส่วนที่ทำให้เกิดสุญญากาศ วิธีการกรองต้องทำให้กระดาษเปียก แล้วทำให้เกิดแรงสุญญากาศ ภายในภาชนะความดันระหว่างภายนอกกับภายในต่างกัน จึงเกิดการกรองได้รวดเร็ว

ข้อควรระวัง

1. เมื่อเริ่มกรองต้องใช้แรงดึงดูดน้อยๆ ก่อนเพื่อป้องกันกระดาษกรองทะลุ
2. ไม่ควรใช้กรองตะกอนเนื้อละเอียด เพราะแรงดูดจะทำให้ตะกอนอุดตันตัวกรอง



รูปที่ 2.6 การกรองโดยอาศัยแรงโน้มถ่วงของโลก

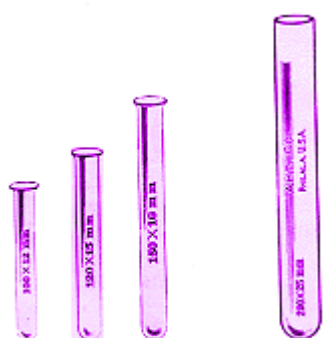


รูปที่ 2.7 การกรองด้วยสุญญากาศ

ที่มา : http://www.science.cmru.ac.th/envi/instrument/chapter1_t7.html

หลอดทดสอบ (Test tube)

หลอดทดสอบมีหลายชนิดและหลายขนาด ชนิดที่มีปากและไม่มีปาก ชนิดธรรมดาและชนิดทนไฟ ขนาดของหลอดทดสอบระบุได้ 2 แบบคือ ความยาวกับเส้นผ่าศูนย์กลางริมนอกหรือขนาดความจุเป็น ปริมาตร ดังแสดงในตารางต่อไปนี้



ความยาว * เส้นผ่าศูนย์กลางริมนอก (มิลลิเมตร)	ความจุ (มิลลิเมตร)
75 * 11	4
100 * 12	8
120 * 15	14
120 * 18	18
150 * 16	20
150 * 18	27

รูปที่ 2.8 หลอดทดสอบขนาดต่าง ๆ

ที่มา : www.kksci.com

หลอดทดสอบส่วนมากใช้สำหรับทดลองปฏิกิริยาเคมีระหว่างสารต่างๆ ที่เป็นสารละลาย ใช้ต้มของเหลวที่มีปริมาตรน้อยๆ โดยมี test tube holder จับกันร้อนมือ

หลอดทดสอบแบบทนไฟจะมีขนาดใหญ่ และหนากว่าหลอดธรรมดา ใช้สำหรับเผาสารต่างๆ ด้วยเปลวไฟโดยตรงในอุณหภูมิที่สูง หลอดชนิดนี้ไม่ควรนำไปใช้สำหรับทดลองปฏิกิริยาเคมีระหว่างสารเหมือนหลอดธรรมดา

อุปกรณ์และสารเคมี

เครื่องชั่งมีแขน	(Triple Beam Balance)
เครื่องชั่งไฟฟ้า	(Analytical Balance)
กระบอกตวง	(Graduate Cylinder)
ปิเปต	(Volumetric Pipette)
กรวยแก้ว	(Glass Funnel)
บีกเกอร์	(Beaker)
แท่งแก้วคน	(Glass Rod)
หลอดหยด	(Dropper)
กระจกนาฬิกา	(Watch Glass)
กระดาษกรอง	(Filter Paper ของ Whatman เบอร์ 1 , 4 และ 42
BaCl ₂	(Barium Chloride) เข้มข้น 1 โมล/ลิตร
H ₂ SO ₄	(Sulfuric Acid) เข้มข้น 1 โมล/ลิตร

วิธีทดลอง

ตอนที่ 1 การชั่ง

ให้นักศึกษารับวัตถุที่มีน้ำหนักแน่นอนจากอาจารย์ผู้ควบคุมแล้วนำไปชั่งด้วยเครื่องชั่งมีแขน(น้ำหนักที่ชั่งได้) และเครื่องชั่งไฟฟ้า(น้ำหนักที่แท้จริง) บันทึกผลการทดลอง แล้วนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ ค่าความผิดพลาดสัมพัทธ์ จากสูตร

$$\% \text{ ความผิดพลาดสัมพัทธ์} = \frac{\text{น้ำหนักที่แท้จริง} - \text{น้ำหนักที่ชั่งได้}}{\text{น้ำหนักที่แท้จริง}} \times 100$$

ตอนที่ 2 การวัดปริมาตร

1. ใช้ Volumetric Pipette ขนาด 5 มล. ในการวัดปริมาตรของน้ำสะอาด
2. ถ่ายน้ำจาก Volumetric Pipette ลงในกระบอกตวงขนาด 10 มล. อ่านค่าปริมาตรจากกระบอกตวง
3. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างสัมพัทธ์ของกระบอกตวงและ Volumetric Pipette จากสูตร

$$\% \text{ ความผิดพลาดสัมพัทธ์} = \frac{\text{ความแตกต่างที่วัดได้}}{\text{ปริมาตรที่ต้องการ}} \times 100$$

ตอนที่ 3 การผสมสาร

1. ตวง 1 โมล/ลิตร BaCl_2 จำนวน 5 มล. ใส่ในถ้วยริน
2. ตวง 1 โมล/ลิตร H_2SO_4 จำนวน 5 มล. ลงไปผสมกับสารข้อที่ 1 ผสมสารเข้าด้วยกัน สังเกตการเปลี่ยนแปลง

ตอนที่ 4 การกรองสาร

1. นำสารที่ได้จากการผสมของตอนที่ 3 มากรอง ผสมมา 3 บีกเกอร์ โดยใช้กระดาษกรอง ของ Whatman เบอร์ 1 , 4 และ 42 ตามลำดับ (กรองโดยอาศัยแรงโน้มถ่วงของโลก) แล้วบันทึกผลเปรียบเทียบเพื่อนำมาเป็นข้อมูลในการเลือกกระดาษกรองเบอร์ที่เหมาะสมในการกรอง

บทปฏิบัติการที่ 2

เรื่อง เทคนิคการทดลองในห้องปฏิบัติการเคมีด้วยอุปกรณ์พื้นฐาน

ผู้ทดลอง1.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

2.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

3.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

วันที่ทำการทดลอง.....อาจารย์ผู้ควบคุม.....

ตอนที่ 1 วัตถุที่ได้รับจากอาจารย์ผู้ควบคุมหนัก.....กรัม

น้ำหนักที่ได้จากการชั่งด้วยเครื่องชั่งมีแขนกรัม

น้ำหนักที่ได้จากการชั่งด้วยเครื่องชั่ง ไฟฟ้ากรัม

ตอนที่ 2 ปริมาตรที่กระบอกตวงวัดได้.....มล.

ตอนที่ 3-4 ลักษณะของสารละลายก่อนการกรอง.....

ผลที่ได้จากการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1.....

.....

ผลที่ได้จากการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4.....

.....

ผลที่ได้จากการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42.....

.....

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

บทปฏิบัติการที่ 3

เรื่อง เลขนัยสำคัญและความคลาดเคลื่อน

จุดประสงค์

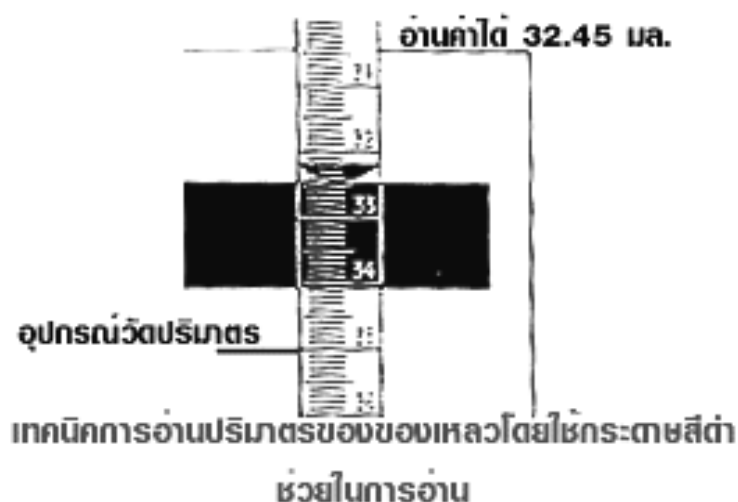
1. เพื่อศึกษาวิธีการใช้อุปกรณ์ที่จำเป็นบางชนิดในห้องปฏิบัติการ
2. เพื่อศึกษาถึงเลขนัยสำคัญของอุปกรณ์บางชนิดในห้องปฏิบัติการเคมี
3. เพื่อศึกษาหลักการคำนวณโดยคำนึงถึงเลขนัยสำคัญ

หลักการ

ในการทำปริมาณวิเคราะห์ ผลที่ได้จะมีความไม่แน่นอน (uncertainty) หรือความคลาดเคลื่อน (error) เข้ามาเกี่ยวข้องด้วยเสมอ ดังนั้นในการวิเคราะห์หาปริมาณของสาร นอกจากจะต้องทำการทดลองให้ถูกต้องตามวิธีการแล้ว ยังต้องรู้จักนำผลการทดลองที่ได้ มาตีความหาคำนวณ แล้วรายงานให้มีความหมายและน่าเชื่อถือมากที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งการบันทึกข้อมูลการทดลองที่ได้จากการชั่ง ตวง วัด ต้องบันทึกเฉพาะตัวเลขที่มีนัยสำคัญ และผลลัพธ์ที่ได้จากการคำนวณต้องรายงานเฉพาะตัวเลขที่มีนัยสำคัญเท่านั้น

เลขนัยสำคัญ (significant figures)

เลขนัยสำคัญ คือ กลุ่มตัวเลขที่แสดงถึงความแม่นยำของการชั่ง ตวง วัด ประกอบด้วยตัวเลขที่แสดงความแน่นอน (certainty figure) รวมกับตัวเลขอีกหนึ่งตัวที่แสดงถึงความไม่แน่นอน (certainty figure) เช่น อ่านปริมาตรของน้ำจากบิวเรตได้ 32.45 มิลลิลิตร จากรูป



รูปที่ 1 แสดงการอ่านปริมาตรน้ำในบิวเรตได้ 32.45 มิลลิลิตร

ที่มา : <http://mamsa55.wordpress.com/>

จะเห็นว่าสามารถอ่านปริมาตรแน่นอนจากบิวเรต 32.4 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นตัวเลขที่มีค่าแน่นอน ส่วนเลข 5 เป็นเลขที่ได้จากการกะประมาณด้วยสายตา จึงเป็นตัวเลขที่ไม่แน่นอน เป็นที่เข้าใจกันว่า ถ้าไม่มีการระบุความไม่แน่นอนกำกับไว้ท้ายจำนวนเลข ให้ถือว่าตัวเลขตัวสุดท้ายมีความไม่แน่นอน ± 1 เสมอ เช่น ชั่ง $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ได้ 0.1517 กรัม หมายความว่าน้ำหนัก $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ที่ชั่งได้มีค่าระหว่าง 0.1516 ถึง 0.1517 กรัม แต่ระบุว่า $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ นหนัก 0.1517 ± 0.0002 กรัม จะหมายความว่า $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ อยู่ระหว่าง 0.1515 – 0.1519 กรัม

กลุ่มตัวเลขที่มีนัยสำคัญ

สิ่งสำคัญที่ต้องนำมาพิจารณาในการหาจำนวนตัวเลขที่มีนัยสำคัญคือ กลุ่มตัวเลขที่ได้จากการชั่ง ตวง วัด จะมีนัยสำคัญทุกตัว ยกเว้นกลุ่มตัวเลขที่ได้จากการเปลี่ยนหน่วยและมีเลข 0 เข้ามาเกี่ยวข้อง เลข 0 อาจมีหรือไม่มีนัยสำคัญก็ได้ เช่น อ่านปริมาตรจากบิวเรตได้ 10.04 มิลลิลิตร เลข 0 จะมีนัยสำคัญ แต่ถ้ารายงานหน่วยเป็นลิตรจะมีค่า 0.01004 ลิตร จำนวนตัวเลขที่มีนัยสำคัญต้องเท่าเดิมคือ 4 ตัว ดังนั้นเลข 0 สองตัวข้างหน้าไม่มีนัยสำคัญ เพื่อไม่ให้สับสน อาจรายงานผลเป็น 1.004×10^{-2} ลิตร ที่กล่าวมานี้เป็นการเปลี่ยนหน่วยเล็กให้เป็นหน่วยใหญ่ ในทำนองเดียวกันการเปลี่ยนหน่วยใหญ่ให้เป็นหน่วยเล็กก็ต้องระมัดระวังเกี่ยวกับการรายงานผล เช่น ในการชั่ง สมมติว่า ชั่งสารได้ 2.6 กรัม (มีนัยสำคัญ 2 ตัว) ถ้าต้องการเปลี่ยนหน่วยเป็นมิลลิกรัม (mg) จะมีค่า 2600 mg แต่เนื่องจากกลุ่มตัวเลขชุดเดียวกันต้องมีเลขนัยสำคัญเท่ากัน แสดงว่าเลข 0 สองตัวหลังไม่มีนัยสำคัญ ดังนั้นต้องรายงานผลเป็น 2.6×10^3 mg ตัวอย่างอื่นๆ เช่น ต้องการเปลี่ยน 4.27 หลา ให้เป็นนิ้วจะมีค่าเท่ากับ 153.72 นิ้ว ($4.27 \text{ หลา} \times 3 \text{ ฟุต / หลา} \times 12 \text{ นิ้ว / ฟุต}$) เป็นต้น

การปัดตัวเลข (round of number)

เมื่อนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาคำนวณมักจะมีผลทำให้จำนวนตัวเลขเพิ่ม เพื่อให้ผลลัพธ์มีจำนวนเลขนัยสำคัญที่ถูกต้อง จึงมีความจำเป็นที่จะต้องปัดตัวเลขส่วนเกินไป หลักเกณฑ์ที่นำมาใช้พิจารณาปัดตัวเลขส่วนเกินออกมีดังนี้ (ตัวอย่างแต่ละกรณีต่อไปนี้ต้องการให้มีเลขนัยสำคัญเพียง 2 ตัว)

1. ถ้าตัวเลขที่ต้องการปัดทั้งมีค่ามากกว่า 5 ให้ปัดขึ้น ถ้าน้อยกว่า 5 ให้ปัดทิ้งเช่น
 9.47 (7 มากกว่า 5 ให้ปัดขึ้น) คำตอบคือ 9.5
 9.43 (3 น้อยกว่า 5 ให้ปัดทิ้ง) คำตอบคือ 9.4
2. ถ้าตัวเลขที่ต้องการปัดเท่ากับ 5 ให้พิจารณาดังนี้คือ
 2.1 ถ้าหน้าเลข 5 เป็นเลขคู่ ให้ปัดขึ้น แต่ถ้าหน้าเลข 5 เป็นเลขคู่ให้ปัดทิ้ง ทั้งนี้ต้องไม่มีเลขมาต่อท้ายเลข 5 ยกเว้นเลข 0 เช่น 8.36 , 8350 (หน้าเลข 5 เป็นเลขคู่ให้ปัดขึ้น)

คำตอบคือ 8.4 , 8.36 ตามลำดับ ส่วน 8.050 , 8.65 , 8.650 (หน้าเลขเลข 5 เป็นเลขคู่ ให้ปัดทิ้ง) คำตอบคือ 8.0 และ 8.6

- 2.2 ถ้ามีเลขอื่นๆที่ไม่ใช่เลข 0 มาต่อท้ายเลข 5 ไม่ว่าหน้าเลข 5 จะเป็นเลขคู่ หรือเลขคู่ขึ้นเสมอ เช่น 1.253 , 1356 (หน้าเลข 5 ไม่ใช่เลข 0 ให้ปัดขึ้น) คำตอบคือ 1.3 หรือ 1.4

เลขนัยสำคัญของผลลัพธ์ที่ได้จากการคำนวณ

การรายงานผลการทดลองที่ได้จากการคำนวณต้องระมัดระวังเกี่ยวกับเลขนัยสำคัญ เนื่องจากการใช้เครื่องคิดเลขบางเครื่องมีจุดทศนิยม 8-9 ตำแหน่ง โดยตำแหน่งหลังๆ ไม่มีนัยสำคัญ

ผลลัพธ์ที่ได้จากการบวกและลบ

ต้องมีจำนวนเลขหลังจุดทศนิยมเท่ากับจำนวนเลขหลังจุดทศนิยมน้อยที่สุดที่นำมาคำนวณ ซึ่งหมายความว่าผลลัพธ์จะมีความแม่นยำสูงกว่าตัวเลขที่มีความแม่นยำสูงกว่าตัวเลขที่มีความแม่นยำต่ำสุดที่นำมาบวกลบกันไม่ได้ เช่น $4.523 + 102.87 + 54.5428 + 1543.2 + 236.8 = 1941.9358$ กลุ่มตัวเลขนัยสำคัญน้อยที่สุดคือ 1543.2 และ 236.8 ดังนั้นผลลัพธ์ที่ได้ต้องเท่ากับ 1941.9

ผลลัพธ์ที่ได้จากการคูณและการหาร

เลขนัยสำคัญของผลลัพธ์ต้องเท่ากับเลขนัยสำคัญของตัวที่มีค่าน้อยที่สุด ที่นำมาใช้ในการคำนวณ นั้น เช่น $4.5 \times 25.827 \times 32.45 = 3771.387675$ กลุ่มตัวเลขที่มีนัยสำคัญน้อยที่สุดคือกลุ่มตัวเลขที่มีนัยสำคัญ 2 ตัวคือ 4.5 ดังนั้น ผลลัพธ์ที่ได้คือ 3.8×10^3

ความถูกต้อง

ความถูกต้องของผลการทดลองหมายถึง ความแตกต่างระหว่างค่าจริง (true value) ค่าที่ได้จากการทดลอง (measured value) ซึ่งได้จากอุปกรณ์ที่ใช้ เช่น ในการวัดอุณหภูมิจากเทอร์โมมิเตอร์ 2 อัน อันแรกวัดได้ละเอียด 0.1°C ถ้านำเทอร์โมมิเตอร์ทั้งสองอันนี้มาวัดของสำคัญ 3 ตัว เทอร์โมมิเตอร์ 2 อัน วัดได้ 25.18°C จะมีเลขนัยสำคัญ 4 ตัว จะเห็นว่าการอ่านอุณหภูมิของน้ำในบีกเกอร์เดียวกัน ถ้าใช้อุปกรณ์ที่วัดละเอียดมากกว่า จะได้ผลถูกต้องดีกว่า

อย่างไรก็ตามผลการวัดที่ถูกต้อง ยังขึ้นอยู่กับมาตรฐานของเครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่ใช้ เช่น ถ้าเทอร์โมมิเตอร์ที่ใช้ผ่านการเทียบมาตรฐานของเครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่ใช้เช่น ถ้าเทอร์โมมิเตอร์ที่ใช้ผ่านมาตรฐานผิดไป 1°C ค่าที่อ่านได้จะต่างๆ ไปจากค่าจริง 1°C เสมอ

ความแม่นยำ (precision)

ความแม่นยำของการทดลองหมายถึง ผลการทดลองที่ทำซ้ำๆ หลายครั้ง ถ้ามีค่าเท่ากันหรือใกล้เคียงกัน แสดงว่าการทดลองนั้นมีความแม่นยำสูง อย่างไรก็ตาม การวัดที่มีความแม่นยำสูงๆ ไม่จำเป็นต้องมีความถูกต้องเสมอไปเปรียบเทียบกับกับการยิงเป้า ถ้ายิงถูกที่เดิมตลอดเวลาแต่ไม่ถูกกลางเป้า เรียกการยิงครั้งนั้นว่ามีความแม่นยำสูง แต่ไม่มีความถูกต้อง เป็นต้น

ความคลาดเคลื่อน (error)

การทดลองทุกครั้งมีปัจจัยอย่างที่มีผลให้ถูกต้องน้อยลง ได้แก่ การอ่านสเกลของอุปกรณ์และเครื่องมือ การจดบันทึก การคำนวณ และอื่นๆ อีกซึ่งทำให้ผลการทดลองที่ได้ต่างไปจากค่าจริงคือ ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อน ซึ่งจำแนกออกได้เป็น 2 ชนิดคือ

1. ความคลาดเคลื่อนที่สามารถหลีกเลี่ยงและตรวจสอบได้ (determinate error) หรือ systematic error) เป็นความคลาดเคลื่อนที่ทราบค่าจึงสามารถแก้ไขได้ เช่น

- 1.1 ความคลาดเคลื่อนเนื่องจากเครื่องมือเกิดจากเครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่ใช่ เช่น เครื่องชั่งตຸ່ມน้ำหนัก บิวเรต ขวดวัดปริมาตร ไม่ได้ได้รับการตรวจสอบให้ได้มาตรฐาน (uncelebrated)
- 1.2 ความคลาดเคลื่อนเนื่องจากสารเคมี เกิดเนื่องจากสารเคมีที่ใช้ไม่บริสุทธิ์ เป็นต้น
- 1.3 ความคลาดเคลื่อนเนื่องผู้ทำการทดลอง เกิดจากผู้ทำการทดลองมีความรู้เท่าไม่ถึงการณ์หรือขาดความระมัดระวังและรับผิดชอบ เช่น ใช้เทคนิคหรือเลือกวิธีไม่ถูกต้องหรือนำเทคนิคที่ไม่เหมาะสมมาใช้ ขาดความเที่ยงตรงในการบันทึกผลการทดลอง โดยบันทึกเฉพาะที่ตนต้องการ ดังนั้นความซื่อสัตย์นับว่าเป็นสิ่งสำคัญของผู้ทำการทดลองทุกคน

2. ความคลาดเคลื่อนที่ไม่สามารถตรวจสอบได้ (indeterminate error หรือ random error) เป็นความคลาดเคลื่อนที่ทำให้ผลการทดลองแต่ละครั้งไม่เท่ากัน ถึงแม้ว่าผู้ทำการทดลองได้แก้ไขความคลาดเคลื่อน ที่สามารถตรวจสอบได้แล้วก็ตาม เช่น การสังเกตการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ในการไตเตรตกับเบส เป็นต้น ความคลาดเคลื่อนแบบนี้จะทำให้ผลการทดลองที่ได้มีค่ามากกว่าหรือน้อยกว่าค่าจริง ดังนั้นถ้าทำการทดลองหลายๆ ครั้ง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย ผลการทดลองที่ได้จะมีโอกาสใกล้เคียงหรือเท่ากับค่าจริง

ให้ $\bar{X}$ เป็นค่าเฉลี่ยของชุดการทดลอง $X_1, X_2, \dots, X_n$ รวมแล้วทำการทดลอง n ครั้ง
ค่า $\bar{X}$ คำนวณได้ดังนี้

$$\begin{aligned}\bar{X} &= \frac{X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_n}{n} \\ &= \frac{\sum X_i}{n}\end{aligned}$$

ค่าเฉลี่ยที่ได้จะเป็นตัวแทนของผลการทดลองที่นำมารายงาน

ในกรณีที่ต้องแสดงความแม่นยำของผลการทดลอง อาจทำได้โดยหาค่าความเบี่ยงเบนจากค่าเฉลี่ย (deviation from mean) หรือค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)

ในแต่ละค่าของผลการทดลองที่ได้ นำไปใช้หาค่าความเบี่ยงเบนเฉลี่ย ($\bar{d}$) และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S) ได้ดังนี้

$$\bar{d} = \frac{\sum(X_i - \bar{X})}{n}$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

X_i = ค่าที่ได้จากการทดลอง

$n-1$ = องศาแห่งความอิสระ (degree of freedom)

ผลการทดลองที่รายงานด้วยความแม่นยำคือ $\bar{X} \pm \bar{d}$ หรือ $\bar{X} \pm S$

ตัวอย่าง จงแสดงการจัดข้อมูลเพื่อเสนอผลการทดลอง โดยแสดงความแม่นยำที่ได้จากการวิเคราะห์หาปริมาณของ Fe ในแร่ชนิดหนึ่ง โดยทำการทดลอง 5 ครั้ง ได้ผลการทดลองดังนี้

วิธีทำ

%Fe	$ X_i - \bar{X} $	$(X_i - \bar{X})^2$
14.28	0.26	0.0676
14.20	0.18	0.0324
13.39	0.63	0.397
13.92	0.10	0.010
14.30	0.28	0.078

$$\bar{X} = 14.02 \quad \bar{d} = \dots\dots\dots S = \dots\dots\dots$$

การเขียนรายงานผลโดยแสดงความแม่นยำคือ

$$\%Fe = 14.14 \pm 0.15 \text{ หรือ}$$

$$\%Fe = 14.14 \pm 0.17$$

ความถูกต้องและความแม่นยำในการอุปกรณ์ในการวัดปริมาตร

อุปกรณ์ที่ใช้วัดปริมาตรมีหลายชนิดต้องเลือกใช้ให้ถูกต้องวัตถุประสงค์ เช่น ถ้าต้องวัด ปริมาตรอย่างคร่าวๆ อนุโลมให้ใช้บีกเกอร์ที่มีบอกขีดปริมาตร ซึ่งผลการตรวจสอบจะมีความคลาดเคลื่อนและความไม่แน่นอนสูง หรือขาดความถูกต้องและความแม่นยำนั่นเอง

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดปริมาตรได้แก่ กระจกตวง ปีเปต บิวเรต และขวดวัดปริมาตรต้องเลือกใช้ให้ถูกวิธีจึงจะได้ผลสมความมุ่งหมาย

ความแม่นยำหรือความคลาดเคลื่อนสูงสุดที่ยอมรับได้ของอุปกรณ์วัดปริมาตรชนิดต่างๆ ได้มีการกำหนดไว้แล้ว โดยสถาบันมาตรฐานแห่งชาติของประเทศต่างๆ เช่น สหรัฐอเมริกา (U.S National Bureau of standards)

ค่าความคลาดเคลื่อนสูงสุดที่ยอมรับได้คือ ค่าความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์ของการอ่านแต่ละครั้งทราบได้จากตารางที่บริษัทผู้ผลิตทำไว้ โดยเทียบกับกำหนดมาตรฐาน เช่น การไทเทรตสารตัวอย่างโดยใช้ บิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร ความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์เท่ากับ ± 0.10 มิลลิลิตร ต่อการอ่านปริมาตร 1 ครั้ง ในการไทเทรตต้องอ่านปริมาตรก่อนหรือหลังไทเทรต คือ อ่าน 2 ครั้ง ดังนั้นค่าความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์ของการอ่านปริมาตรจะเท่ากับ ± 0.20 มิลลิลิตร ความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์จะไม่ขึ้นกับปริมาตรที่ไขออกจากบิวเรตกล่าวคือ ไม่ว่าจะไขออกมา 10.00 หรือ 40.00 มิลลิลิตร ความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์จะเท่ากับ ± 0.20 มิลลิลิตร

ยังมีความคลาดเคลื่อนอีกชนิดหนึ่ง คือ ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ ค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์จะมากหรือน้อยกว่าขึ้นกับปริมาณสารที่ใช้ เช่น ถ้าไขสารละลายออกมา 10.00 กับ 40.00 มิลลิลิตร จากบิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร (ซึ่งมีค่าความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์ของการอ่านแต่ละครั้งเท่ากับ ± 0.10 มิลลิลิตร) ค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์คำนวณได้ดังนี้

$$\text{ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์เมื่อใช้สาร 10.00 มิลลิลิตร} = (0.20/10.00) \times 100 = 2.0\%$$

$$\text{ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์เมื่อใช้สาร 40.00 มิลลิลิตร} = (0.20/40.00) \times 100 = 0.5\%$$

แต่ถ้าไขสารละลาย 10.00 มิลลิลิตร จากบิวเรตขนาด 10 มิลลิลิตร (ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ของการอ่านแต่ละครั้งเท่ากับ ± 0.04 มิลลิลิตร) จะมีค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์

$$= (0.08/10.00) \times 100 = 0.80\%$$

จากผลการคำนวณสรุปได้ว่า ผู้ทำการทดลองต้องเลือกอุปกรณ์ให้เหมาะสมกับปริมาณสารที่ต้องการใช้ เช่น ถ้าต้องการใช้สารละลาย 10.00 มิลลิลิตร ไม่ควรใช้กระจกตวงขนาด 10 มิลลิลิตร

การทดลอง

อุปกรณ์

1. ปีกเกอร์
2. ขวดรูปกรวย
3. กระบอกตวง
4. ปีเปต
5. บิวเรต
6. ขวดวัดปริมาตร
7. เครื่องชั่ง

วิธีการทดลอง

1. ศึกษารายละเอียดที่มีประโยชน์จากเครื่องแก้วและเครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการให้นักศึกษาแต่ละคนสังเกตอุปกรณ์ที่ใช้ในการตวงและเครื่องชั่งชนิดต่างๆ จะพบว่ามียรายละเอียดที่ช่วยให้สามารถใช้อุปกรณ์เหล่านั้นได้อย่างถูกต้อง รู้ถึงเลขนัยสำคัญที่ควรจะมีสำหรับอุปกรณ์แต่ละชนิด

สิ่งที่ควรสังเกตและบันทึกไว้ เช่น

ขนาด

ปริมาตรต่ำสุดและสูงสุดที่สามารถวัดได้

ค่าความคลาดเคลื่อน

อักษร TD, TC, A, B และอื่นๆ

อุณหภูมิในการใช้งาน

ชนิดของปีเปต

นอกจากนี้ยังมีรายละเอียดอื่นๆ อีกมากมาย เช่น ชื่อบริษัทผู้ผลิต ประเทศที่ผลิต หมายเลขบอกคุณภาพของเครื่องแก้ว หมายเลขจากปิดภาชนะและแถบสี เป็นต้น

ให้นักศึกษานำบันทึกข้อมูลต่างๆ ของอุปกรณ์ที่ห้องปฏิบัติการการจัดเตรียมไว้ให้เท่านั้นคือ

1. ปีกเกอร์
2. ขวดรูปกรวย
3. กระบอกตวง
4. ปีเปต
5. บิวเรต
6. ขวดวัดปริมาตร
7. เครื่องชั่ง

2. อ่านปริมาตรจากอุปกรณ์ที่ใช้ในการตวงและวัดปริมาตร ให้นักศึกษาอ่านปริมาตรของสารละลายที่บรรจุอยู่ในอุปกรณ์ที่ใช้ในการตวงและวัดปริมาตรที่ห้องปฏิบัติการเตรียมไว้ให้คือ

2.1 อ่านปริมาตรสารละลายในกระบอกตวง (X_1)

2.2 อ่านปริมาตรสารละลายในบิวเรต (X_2)

บันทึกผลโดยคำนึงถึงเลขนัยสำคัญและส่งผลให้อาจารย์ผู้ควบคุม เมื่อรวบรวมข้อมูลที่ได้จากนักศึกษาทั้งหมดแล้ว จะให้นักศึกษาไปคำนวณหาค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) ค่าความเบี่ยงเบนเฉลี่ย ($\bar{d}$) และหาค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S)

3. หาคความหนาแน่นของน้ำประปา

3.1 ใช้น้ำประปาจากบิวเรต 5.00 มิลลิลิตร ใส่ลงบีกเกอร์ที่แห้งขนาด 100 หรือ 150 มิลลิลิตร ซึ่งชั่งน้ำหนักไว้ก่อนแล้ว (อ่านปริมาตรจากบิวเรต) จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักของน้ำประปา ให้ทำการทดลอง 2 ครั้ง

เทน้ำประปา 5.0 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ที่แห้งขนาด 100 มิลลิลิตร ซึ่งชั่งน้ำหนักไว้ก่อนแล้ว (อ่านปริมาตรจากบีกเกอร์) จากนั้นนำไปชั่งหาน้ำหนักของน้ำประปา ให้ทำการทดลอง 2 ครั้ง

เทน้ำประปา 20.0 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ที่แห้งขนาด 100 มิลลิลิตร ซึ่งชั่งน้ำหนักไว้ก่อนแล้ว (อ่านปริมาตรจากบีกเกอร์) จากนั้นนำไปชั่งหาน้ำหนักของน้ำประปา ให้ทำการทดลอง 2 ครั้ง

เทน้ำประปา 50.0 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปกรวยที่แห้งขนาด 125 มิลลิลิตร ซึ่งชั่งน้ำหนักไว้ก่อนแล้ว (อ่านปริมาตรจากขวดรูปกรวย) จากนั้นนำไปชั่งหาน้ำหนักของน้ำประปา ให้ทำการทดลอง 2 ครั้ง จากนั้นน้ำหนักและปริมาตรของน้ำประปาในข้อ 3.1 , 3.2, 3.3 และ 3.4 จงคำนวณหาความหนาแน่นของน้ำประปาจากสูตร $d = m/v$

การบันทึกและการรายงานผลการทดลอง ต้องคำนึงถึงเลขนัยสำคัญด้วยให้เทียบผลที่ได้และสรุปว่าเครื่องแก้วชนิดใด ให้ความแม่นยำของการวัดดีกว่ากัน

การอภิปราย

ให้นักศึกษาเสนอข้อมูลต่างๆ ที่ตนบันทึกไว้ ซึ่งอาจแตกต่างกัน (ขึ้นกับบริษัทผู้ผลิต) เพื่อจะได้รู้จักใช้เครื่องแก้ว เครื่องชั่ง และนำความรู้เรื่องนัยสำคัญ ไปใช้ในการบันทึกผลการคำนวณและรายงานผลการทดลองให้ถูกต้อง

บทปฏิบัติการที่ 3

เรื่อง เลขนัยสำคัญและความคลาดเคลื่อน

ผู้ทดลอง 1.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

2.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

3.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

วันที่ทำการทดลอง.....อาจารย์ผู้ควบคุม.....

ตอนที่ 1 ศึกษารายละเอียดที่มีประโยชน์จากเครื่องแก้วและเครื่องมือ

รายการ	ขนาด	ปริมาตรต่ำสุดและสูงสุดที่วัดได้หรือชั่งได้	ค่าความคลาดเคลื่อน	อักษร	อุณหภูมิที่ใช้ งาน
บีกเกอร์ ขวดรูปกรวย กระบอกตวง ปิเปต บิวเรต ขวดวัดปริมาตร เครื่องชั่ง					

ตอนที่ 2 อ่านปริมาตรจากอุปกรณ์ที่ใช้ในการตวงและวัดปริมาตร

2.1 อ่านปริมาตรสารละลายในกระบอกตวง

ครั้งที่	X_i	$ X_i - \bar{X} $	$(X_i - \bar{X})^2$
1			
2			
3			
รวม			

หาค่า $\bar{X}$, $\bar{d}$ และ S

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2.2 อ่านปริมาตรสารละลายในบิวเรต

ครั้งที่	X_i	$ X_i - \bar{X} $	$(X_i - \bar{X})^2$
1			
2			
3			
รวม			

หาค่า $\bar{X}$, $\bar{d}$ และ S

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ตอนที่ 3 หาความหนาแน่นของน้ำประปา

อุปกรณ์	ปริมาตร (V)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ความหนาแน่น(d)
ปิวิเรต 50 ml	5 ml	น้ำหนักปิวิเรต + น้ำ.....g น้ำหนักปิวิเรต.....g น้ำหนักน้ำ(m_1).....g	น้ำหนักปิวิเรต + น้ำ.....g น้ำหนักปิวิเรต.....g น้ำหนักน้ำ(m_2).....g	
กระบอกตวง 10 ml	5 ml	น้ำหนักกระบอกตวง + น้ำ.....g น้ำหนักกระบอกตวง.....g น้ำหนักน้ำ(m_1).....g	น้ำหนักกระบอกตวง + น้ำ.....g น้ำหนักกระบอกตวง.....g น้ำหนักน้ำ(m_2).....g	
ปิวิเรต 100 ml	20 ml	น้ำหนักปิวิเรต + น้ำ.....g น้ำหนักปิวิเรต.....g น้ำหนักน้ำ(m_1).....g	น้ำหนักปิวิเรต + น้ำ.....g น้ำหนักปิวิเรต.....g น้ำหนักน้ำ(m_2).....g	
ขวดรูปกรวย 125 ml	50 ml	น้ำหนักขวดรูปกรวย + น้ำ.....g น้ำหนักขวดรูปกรวย.....g น้ำหนักน้ำ(m_1).....g	น้ำหนักขวดรูปกรวย + น้ำ.....g น้ำหนักขวดรูปกรวย.....g น้ำหนักน้ำ(m_2).....g	

คำนวณหาความหนาแน่นของน้ำประปาจากสูตร $d = m/v$ (เมื่อ $m = \frac{m_1 + m_2}{2}$)

2

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

บทปฏิบัติการที่ 4

เรื่อง สมบัติของธาตุและสารประกอบ

จุดประสงค์

1. เพื่อทดสอบสมบัติความเป็นโลหะและอโลหะของธาตุ
2. เพื่อเปรียบเทียบความว่องไวในการทำปฏิกิริยาเคมีของธาตุหมู่ 1A, 2A และ 3A
3. เพื่อทดสอบและเปรียบเทียบ สมบัติของสารประกอบไอออนิกกับสารประกอบโคเวเลนต์

หลักการ

ธาตุ (Elements) เป็นสารบริสุทธิ์ที่เกิดจากอะตอมชนิดเดียวกัน ปัจจุบันมีธาตุจำนวนมากเกินกว่า 105 ธาตุ ธาตุพบได้ทั้งจากธรรมชาติและจากการสังเคราะห์ของนักวิทยาศาสตร์ ธาตุแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม คือ โลหะ อโลหะ กึ่งโลหะ และธาตุเฉื่อย

1. โลหะ (Metals) ได้แก่ธาตุที่มีสมบัติโดยทั่วไปดังนี้ คือมีผิวมันวาว เกละแล้วมีเสียงดังกังวาน มีความเหนียวจึงตีเป็นแผ่นและดึงเป็นเส้นได้ นำความร้อนและไฟฟ้าได้ดี เมื่อรวมกับกรดจะให้สารประกอบพวกเกลือและแก๊สไฮโดรเจน ออกไซด์ของโลหะทำปฏิกิริยากับน้ำได้สารประกอบที่มีฤทธิ์เป็นเบส โลหะสามารถรวมตัวกับอโลหะได้ โดยโลหะเป็นฝ่ายจ่ายอิเล็กตรอนให้กับอโลหะเกิดเป็นสารประกอบไอออนิก เมื่อพิจารณาจากตารางธาตุ พบว่าโลหะที่อยู่ในกลุ่มธาตุหลักจะอยู่ในหมู่ 1A , 2A และ 3A ส่วนธาตุทรานซิชันทุกตัวมีสมบัติเป็นโลหะ

2. อโลหะ (Non-metals) คือธาตุที่มีสมบัติตรงข้ามกับโลหะ อโลหะ สามารถรวมตัวกับพวกอโลหะด้วยกันเกิดเป็นสารประกอบโคเวเลนต์ อโลหะเมื่อรวมกับออกซิเจน ได้ออกไซด์ที่ละลายน้ำแล้วมีฤทธิ์เป็นกรด อโลหะมีทั้งสถานะเป็นของแข็ง ของเหลว และแก๊ส ถ้าพิจารณาในตารางธาตุ อโลหะอยู่หมู่ 7A , 6A และ 5A ส่วนธาตุในหมู่ 4A จะเป็นอโลหะได้บางตัวเท่านั้น

3. กึ่งโลหะ (Metalloid) มีทั้งหมด 8 ชนิด คือ B, Si, Ge, As, Sb, Te, Po และ At ธาตุกลุ่มนี้มีสมบัติที่เป็นได้ทั้งโลหะและอโลหะ

4. ธาตุเฉื่อย (Inert Gasses) ได้แก่ธาตุที่ไม่ค่อยเกิดการเปลี่ยนแปลง จัดเป็นพวกที่มีเสถียรภาพ (Stable) มีพลังงานการแตกตัวสูงมากจึงแตกตัวได้ยาก ธาตุเฉื่อย ได้แก่ He Ne Ar Kr Xe Rn

สารประกอบ (Compounds) คือสารบริสุทธิ์ที่เกิดจากการรวมตัวของธาตุตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไปโดยอัตราส่วนการรวมตัวที่แน่นอน อะตอมของธาตุที่เข้ามารวมตัวกันยึดกันด้วยพันธะเคมี โมเลกุลของสารประกอบจะมีสมบัติเดิมที่เข้ามารวมตัวกัน ถ้าหากยึดพันธะเคมีเป็นเกณฑ์ในการแบ่งประเภทของสารประกอบ จะแบ่งสารประกอบได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ

1. สารประกอบไอออนิก (Ionic Compounds) หรือสารประกอบเชิงไอออน เป็นสารประกอบที่เกิดจากอะตอมมารวมตัวกันด้วยพันธะไอออนิก สถานะของสารประกอบไอออนิกส่วนมากเป็นของแข็ง พันธะ ไอออนิกเป็นพันธะที่มีความแข็งแรงจึงทำให้สารประกอบประเภทนี้มีจุดเดือดและจุดหลอมเหลวสูง ทั้งนี้เพราะผลึกของสารประกอบจะเกิดประจุบวกและประจุลบดึงดูดซึ่งกันและกันโดยทั่วผลึก ในสถานะที่เป็นของแข็งไม่สามารถจะนำไฟฟ้าได้ เพราะประจุยึดกันแน่นอิเล็กตรอนไม่ได้เคลื่อนที่โดยอิสระ และถ้าหลอมสารประกอบไอออนิกจนเปลี่ยนสถานะจากของแข็งมาเป็นของเหลว จะนำไฟฟ้าได้ สารประกอบประเภทนี้ละลายได้ดีในน้ำเพราะโมเลกุลของน้ำจะเข้าไปล้อมรอบประจุทำให้แรงดึงดูดระหว่างประจุถูกทำลาย ประจุไฟฟ้าบวกและประจุไฟฟ้าลบเคลื่อนที่โดยอิสระ จึงทำให้สามารถนำไฟฟ้าได้ การเกิดปฏิกิริยาเคมีของสารประกอบนี้จะเกิดได้เร็ว เพราะเป็นปฏิกิริยาระหว่างประจุไฟฟ้า ตัวอย่างของสารประกอบประเภทนี้ได้แก่ NaCl , K_2O , MgSO_4 , CaCl_2

2. สารประกอบโคเวเลนต์ (Covalent Compounds) เป็นสารประกอบที่เกิดจากการรวมตัวกันของอโลหะ ด้วยพันธะโคเวเลนต์ ส่วนมากแล้วสารประกอบประเภทนี้ไม่ละลายน้ำ ซึ่งเรียกว่า สารประกอบโคเวเลนต์ชนิดไม่มีขั้ว (Nonpolar Covalent Compounds) ได้แก่ ลูกเหม็น เฮกเซน ออกเทน ฯลฯ เป็นต้น แต่จะมีสารประกอบโคเวเลนต์อีกประเภทหนึ่งที่ละลายน้ำได้เรียกว่า สารประกอบโคเวเลนต์มีขั้ว (Polar Covalent Compounds) เช่น แอลกอฮอล์บางชนิด สารประกอบโคเวเลนต์มีจุดเดือดและจุดหลอมเหลวต่ำ เพราะแรงยึดระหว่างโมเลกุลเป็นแรงยึดที่ไม่แข็งแรง เช่น พันธะไฮโดรเจน และแรงแวนเดอร์วาลส์ ปฏิกิริยาของสารประกอบโคเวเลนต์ เกิดได้ช้าเพราะต้องมีการทำลายพันธะเดิมก่อนจึงสร้างพันธะใหม่ขึ้นมา

อุปกรณ์และสารเคมี

อ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิ	(Water Bath)
เครื่องตรวจวัดการนำไฟฟ้า	
หลอดทดลอง	(Test Tube)
บีกเกอร์	(Beaker)
ชามระเหย	(Evaporating Dish)
กระจกนาฬิกา	(Watch Glass)
แท่งแก้วคน	(Glass Rod)
น้ำตาลทราย	(Sugar Cane)
NaCl (s)	(Sodium Chloride)
KNO_3 (s)	(Potassium Nitrate)
C_{10}H_8 (s)	(Naphthalene Powder)

$\text{NaNO}_2(\text{s})$	(Sodium Nitrite)
S (s)	(Sulfur Powder)
Mg (s)	(Magnesium Metal)
Na (s)	(Sodium Metal)
Al (s)	(Aluminium Foil)
HCl (conc.)	(Concentrate Hydrochloric acid)
HCl (aq)	(Hydrochloric acid) เข้มข้น 1 M
Phenolphthalein Solution	
กระดาษลิตมัส สีน้ำเงิน และสีแดง	

วิธีทดลอง

ตอนที่ 1 ทดสอบสมบัติระหว่าง Na กับ Mg

1. ตวงน้ำกลั่นประมาณ 10 มล. ใส่หลอดทดลองขนาดใหญ่ 1 หลอด และใส่ในบีกเกอร์อีก 1 ใบ หยดฟีนอล์ฟทาไลน์ประมาณ 1-2 หยดลงไป เขย่าให้สารละลายผสมกัน
2. ใส่ชิ้นโลหะ Na ลงในบีกเกอร์ (Na เก็บไว้ในน้ำมัน เมื่อนักศึกษามารับต้องใช้น้ำมันให้แห้ง แล้วรีบใส่ลงในบีกเกอร์ พร้อมปิดฝาบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกาทันที) สังเกตผลการทดลอง
3. ใส่ชิ้นโลหะ Mg ลงในหลอดทดลอง (ควรใส่พร้อมกับ Na) สังเกตผลการทดลอง

ตอนที่ 2 ทดสอบสมบัติระหว่าง Mg กับ Al

1. ตวงสารละลาย 1M HCl จำนวน 2 มล. ใส่หลอดทดลอง 2 หลอด
2. ใส่ชิ้นโลหะ Mg ลงในหลอดทดลองหนึ่ง และชิ้น Al ลงไปในหลอดทดลอง อีกหลอดหนึ่ง สังเกตผลการทดลอง

ตอนที่ 3 ทดสอบสมบัติของอโลหะ

1. ชั่งผงกำมะถัน 1 กรัม ใส่ในหลอดทดลองชนิดทนไฟ นำไปเผาโดยเอียงข้างหลอดจนเกิดควันสีขาว (ระวังอย่าสูดดมแก๊สสีขาว ควรทำในตู้ควัน) ปิดหลอดแก้วด้วยจุกไม้คอร์กสักครู่
2. ตวงน้ำกลั่นประมาณ 2 มล. แล้วเทลงในหลอดแก้วที่มีแก๊สสีขาวอยู่ เขย่าให้แก๊สละลายน้ำ
3. ใช้แท่งแก้วคนสาร จุ่มสารละลายในหลอดแก้วตะกอนกระดาษลิตมัสสีน้ำเงิน และสีแดง สังเกตผลการเปลี่ยนแปลง

ตอนที่ 4 สมบัติสารประกอบไอออนิกและสารประกอบโคเวเลนต์

1. ชั่ง NaCl ใส่หลอดทดลองจำนวน 2 หลอดๆ ละ 2 กรัม แล้ววัดการนำไฟฟ้าด้วยเครื่องวัดการนำไฟฟ้า
2. ตวงน้ำกลั่นจำนวน 5 มล. ในหลอดทดลองหนึ่ง คนสารละลายด้วยแท่งแก้วสังเกตการละลาย แล้วนำไปวัดการนำไฟฟ้าอีกครั้ง
3. ตวงเฮกเซน จำนวน 5 มล. ในอีกหลอดหนึ่ง คนสารละลายด้วยแท่งแก้ว สังเกตการละลาย
4. ทำการทดลอง เช่นเดียวกับข้อ 1 - ข้อ 3 แต่เปลี่ยนจาก NaCl มาเป็น น้ำตาลทราย KNO_3 C_{10}H_8 NaNO_2 สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงแล้วบันทึกผล
5. ชั่ง NaCl หนัก 2 กรัม ใส่ชามระเหย นำไปตั้งบนเตาที่ปรับจนได้จุดความร้อนสูงสุดนาน 15 นาที สังเกตผลแล้ววัดการนำไฟฟ้า
6. ชั่งเนฟทาลีน หนัก 2 กรัม ใส่หลอดแก้ว แล้วนำไปจุ่มน้ำร้อนในอ่างต้มอุณหภูมิประมาณ $(80^\circ\text{C} - 100^\circ\text{C})$ สังเกตผลการเปลี่ยนแปลงแล้ววัดการนำไฟฟ้า

บทปฏิบัติการที่ 4

เรื่อง สมบัติของธาตุและสารประกอบ

ผู้ทดลอง1.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....
 2.....รหัสนักศึกษา..... สาขาวิชา.....
 3.....รหัสนักศึกษา..... สาขาวิชา.....

วันที่ทำการทดลอง.....อาจารย์ผู้ควบคุม.....

ตารางบันทึกผลการทดลอง

ตอนที่ 1 ตอนที่ 2 และตอนที่ 3

ธาตุ	การทดลอง	ผลการทดลอง
Na		
Mg (ตอนที่ 1)		
Mg (ตอนที่ 2)		
Al		
S (ตอนที่ 3)		

ตอนที่ 4

การทดลอง	การนำไฟฟ้า		การละลาย	
	ของแข็ง	สารละลาย	น้ำ	เฮกเซน

การหลอม

1. สภาพการหลอมเหลว (ยาก/ง่าย) ของ NaCl.....
2. สภาพการหลอมเหลว (ยาก/ง่าย) ของเนฟทาไลน์.....
3. สภาพการนำไฟฟ้า ของ NaCl ที่เป็นของเหลว.....
4. สภาพการนำไฟฟ้าของเนฟทาไลน์ที่เป็นของเหลว.....

สรุปผลการทดลอง.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

คำถามท้ายบท

1. จงเรียงลำดับสภาพความเป็นโลหะของธาตุที่ได้จากการทดลองจากมากไปหาน้อย
2. สารประกอบโคเวเลนต์จากการทดลองตอนที่ 4 ชนิดใด เป็นสารประกอบโคเวเลนต์มีขั้วและชนิดใดเป็นสารประกอบโคเวเลนต์ชนิดไม่มีขั้ว
3. สารประกอบโคเวเลนต์ที่นำมาทดลอง แต่ละชนิดมีความสามารถในการหลอมเหลวเท่ากันหรือไม่ เพราะเหตุใดจงอธิบายและให้เหตุผลประกอบ

บทปฏิบัติการที่ 5

เรื่อง การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

จุดประสงค์

1. เพื่อคำนวณปริมาณของสารที่ใช้ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานได้ถูกต้อง
2. สามารถเลือกอุปกรณ์ที่ใช้เตรียมสารละลายได้ถูกต้อง
3. สามารถลำดับขั้นตอนการเตรียมสารละลายมาตรฐานได้ถูกต้อง
4. สามารถหาความเข้มข้นของสารละลายอื่นด้วยการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน

หลักการ

ในการศึกษาวิเคราะห์ด้านปริมาณทางเคมีจะประกอบด้วย การวิเคราะห์โดยการวัดทางน้ำหนัก (Gravimetric Analysis) และการวิเคราะห์โดยการวัดทางปริมาตร (Volumetric Analysis) ซึ่งวิธีหลังนิยมใช้วิธีวิเคราะห์ที่เรียกว่า Titrimetric Analysis ในการศึกษาวิเคราะห์โดยการวัดทางปริมาตรนี้ จะใช้หลักการวัดปริมาตรของสารที่เข้าทำปฏิกิริยาพอดีกัน โดยการนำสารละลายที่ต้องการหาปริมาณหรือความเข้มข้นและทราบปริมาตรแน่นอนมาไทเทรต (Titrate) กับสารละลายมาตรฐาน (สารละลายที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน) และทราบปริมาตรในการเข้าทำปฏิกิริยา ข้อมูลที่ได้จากกระบวนการ สามารถนำมาคำนวณหาปริมาณหรือความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างได้

อุปกรณ์ที่มีความสำคัญต่อกระบวนการไทเทรต (Titration) จัดเป็นอุปกรณ์ที่มีความแม่นยำในการวัดปริมาตรสูง ดังนั้นจึงใช้บิวเรตต์และปิเปตต์ เป็นอุปกรณ์หลักในการวัดปริมาตร สารละลายที่อยู่ในบิวเรตต์จะเรียกว่า Titrant และสารละลายที่อยู่ในขวดรูปชมพู่หรือถ้วยรินจะเรียกว่า Titrant ซึ่งใช้ปิเปตต์ เป็นเครื่องมือในการวัด (รายละเอียดจะกล่าวอีกครั้งไปขั้นตอนการไทเทรต) นอกจากอุปกรณ์ดังกล่าวแล้ว สารละลายที่เข้ามาทำปฏิกิริยาพอดีกับสารละลายตัวอย่างจะต้องสามารถเตรียมให้มีความเข้มข้นที่แน่นอน เรียกสารละลายนี้ว่าสารละลายมาตรฐาน (Standard Solution) ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ชนิดตามลักษณะของสารที่ใช้เตรียม คือ

1. สารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ (Primary Standard Solution) เป็นสารละลายที่เตรียมได้จากสารมาตรฐานปฐมภูมิ ที่มีสมบัติดังนี้
 - 1.1 เป็นสารที่บริสุทธิ์ หากมีสิ่งอื่นเจือปน สิ่งที่เจือปนนั้นต้องไม่เข้าทำปฏิกิริยา
 - 1.2 ทำให้แห้งในตู้อบได้ และไม่เป็นสารดูดความชื้นหรือเปลี่ยนแปลงได้ง่ายเมื่อถูกอากาศ
 - 1.3 เป็นสารที่ทราบสูตรแน่นอน และมีมวลโมเลกุลสูงเพื่อลดความผิดพลาดจากการชั่ง

ตัวอย่างของสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิคือ โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (Potassium Hydrogen Phthalate, $\text{HKC}_8\text{H}_4\text{O}_4$) ซึ่งใช้เป็นสารละลายมาตรฐานในการหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide, NaOH)

2. สารละลายมาตรฐานทุติยภูมิ (Secondary Standard Solution) หรือ Derived Standard Solution) เป็นสารละลายมาตรฐานที่ไม่สามารถเตรียมให้ได้ความเข้มข้นที่แน่นอนได้โดยตรง เนื่องจากสารประเภทนี้เป็นสารดูดความชื้น หรือสลายได้เมื่อถูกกับอากาศ เช่น NaOH ดังนั้นน้ำหนักที่ชั่งได้ไม่ใช่ น้ำหนักที่ถูกต้องของเนื้อสาร ความเข้มข้นที่เตรียมได้จึงเป็นความเข้มข้นโดยประมาณ จะทราบความเข้มข้นที่แน่นอนได้ต้องนำไปไทเทรตกับสารละลายปฐมภูมิ ซึ่งเรียกว่า Standardization

ในกระบวนการไทเทรต เมื่อสาร 2 ชนิดเข้าทำปฏิกิริยากันพอดี จุดที่สารทั้ง 2 ชนิดทำปฏิกิริยาพอดีกันจะเรียกว่าจุดสมมูล (Equivalent Point) ในทางปฏิบัติจะใช้อินดิเคเตอร์เป็นตัวบ่งชี้ จุดสมมูล โดยพิจารณาเลือกอินดิเคเตอร์ที่มีการเปลี่ยนสีใกล้เคียงจุดสมมูลเรียกว่าจุดที่อินดิเคเตอร์เปลี่ยนสีว่าจุดยุติ (End Point) ดังนั้นการเลือกใช้อินดิเคเตอร์จึงมีความสำคัญต่อการไทเทรตเป็นอย่างยิ่ง อินดิเคเตอร์ที่นิยมใช้ในการไทเทรตระหว่าง กรด-เบส คือ

เมทิลออเรนจ์	เปลี่ยนสีได้ในช่วง pH 3.1 – 4.4 จากสีแดง – สีส้ม
บรอมไธมอลบลู	เปลี่ยนสีได้ในช่วง pH 6.0 – 7.6 จากสีเหลือง – สีนํ้าเงิน
ฟีนอล์ฟทาเลอิน	เปลี่ยนสีได้ในช่วง pH 8.3 – 10.0 จากไม่มีสี – สีชมพู

เมื่อปฏิกิริยาดำเนินการมาถึงจุดยุติ จะทราบปริมาตรของสารที่เข้าทำปฏิกิริยา และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหา ความเข้มข้นของสารละลายหนึ่งได้ด้วยสูตร

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

C_1 = ความเข้มข้นของสารที่ต้องการทราบ
 C_2 = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน
 V_1 = ปริมาตรของสารที่ต้องการทราบความเข้มข้น
 V_2 = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน

ขั้นตอนการไทเทรต

1. ส่วนมากนิยมรินสารละลายมาตรฐานใส่บิวเรตต์ที่แห้งและสะอาด โดยให้ปริมาตรอยู่สูงเกินกว่าขีดบอกปริมาตร ไซสารละลายให้เต็มบิวเรตต์โดยไม่มีฟองอากาศที่ปลายบิวเรตต์ นำไปยี้ดกับขวดล้างที่จับปรับให้ขีดบนของสารละลายตรงกับขีดบอกปริมาตรสารละลายที่อยู่ในบิวเรตต์เรียกว่า ไตเตรน (Titrant)

2. ใช้ปิเปตต์ดูดสารละลายอีกชนิดหนึ่งใส่ในขวดรูปชมพู่ หยดอินดิเคเตอร์ลงไป 2-3 หยดเขย่าขวดให้สารละลายผสมกัน สารละลายที่อยู่ในขวดรูปชมพู่ เรียกว่าไตเตรนด์ (Titrand) ใช้อินดิเคเตอร์ในปริมาณน้อยเพราะจะได้ไม่ทำให้ปริมาตรของสารที่เข้าทำปฏิกิริยาเปลี่ยนแปลง

3. นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน โดยค่อย ๆ ไขบิวเรตต์ให้สารละลายมาตรฐานค่อย ๆ หยดลงไปทำปฏิกิริยาโดยใช้มือซ้ายไข ส่วนมือขวาถือขวดรูปชมพู่หมุนให้สารละลายผสมกันอยู่ตลอดเวลาหยดสุดท้ายที่สารละลายเปลี่ยนสีคือจุดยุติของปฏิกิริยา (จะสังเกตการเปลี่ยนสีได้ง่ายถ้าใช้กระดาษขาวรองขวด)

4. อ่านปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน การทดลองนี้ควรปฏิบัติซ้ำ 2-3 ครั้งแล้วนำไปหาค่าเฉลี่ย

อุปกรณ์และสารเคมี

ขวดปริมาตร	(Volumetric Flask)
เครื่องชั่งไฟฟ้า	(Analytical Balance)
ขวดชั่ง	
เบ็กเกอร์	(Beaker)
แท่งแก้วคน	(Glass Rod)
บิวเรต	(Burette)
ปิเปต	(Pipette)
ขวดรูปชมพู่	(Errenmeyer Flask)
$\text{HKC}_8\text{H}_4\text{O}_4$	(Potassium Hydrogen Phthalate)
NaOH	(Sodium Hydroxide)
ฟีนอล์ฟทาเลอิน	(Phenolphthalein)

วิธีทดลอง

ตอนที่ 1 เตรียมสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ

1. คำนวณหาน้ำหนักโปแตสเซียมไฮโครเจนพทาเลตที่ต้องการใช้ในการเตรียมเป็นสารละลายที่เข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร จำนวน 50 มล.
2. ชั่งโปแตสเซียมไฮโครเจนพทาเลตหนักเท่ากับน้ำหนักที่คำนวณได้ (โปแตสเซียมไฮโครเจนพทาเลตที่ใช้ต้องอบที่อุณหภูมิ 120°C นาน 2 ชั่วโมง)
3. เทสารที่ได้จากการชั่งใส่ขวดปริมาตรขนาด 100 มล. และใส่น้ำกลั่นลงไปประมาณ 3 ใน 4 ส่วนของขวด เขย่าสารละลายให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
4. เติมน้ำซึ่งเป็นตัวทำละลายลงไปจนถึงขีดบอกปริมาตร (ดูที่ส่วนโค้งต่ำสุดของตัวทำละลายถึงขีดบอกปริมาตรพอดี) เขย่าจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร

ตอนที่ 2 เตรียมสารละลายทุติยภูมิ

1. เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์หนัก 10 กรัม ใส่ในถ้วยรินตวงน้ำกลั่น (ได้จากการนำเอาไปต้มก่อนแล้วปล่อยให้เย็น) จำนวน 240 ml. ลงไปคนให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเก็บสารในขวดเก็บสารที่ทำด้วยพลาสติกอย่างดี
2. ตวงสารละลายที่ได้ในข้อ 4 (ตอนที่ 1) จำนวน 10 ml. ด้วยปิเปต ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml. หยดฟีนอล์ฟทาลีนลงไป 2 – 3 หยด เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปไทเทรตกับ NaOH ที่อยู่ในบิวเรตจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีชมพูอ่อน แสดงว่าถึงจุดยุติ ให้จดปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ (การสังเกตสีของจุดยุติจะง่ายถ้าใช้กระดาษสีขาวรองใต้ขวดรูปชมพู่ขณะทดลอง)

บทปฏิบัติการที่ 5

เรื่อง การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ผู้ทดลอง1.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....
 2.....รหัสนักศึกษา..... สาขาวิชา.....
 3.....รหัสนักศึกษา..... สาขาวิชา.....

วันที่ทำการทดลอง.....อาจารย์ผู้ควบคุม.....

บันทึกผลการทดลอง

ตอนที่ 1

มวลโมเลกุลของ $\text{HKC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ =
 น้ำหนักภาชนะ + น้ำหนักสาร =
 น้ำหนักภาชนะ =
 น้ำหนักสาร =
 ความเข้มข้น =

ตอนที่ 2

ครั้งที่	ปริมาตร $\text{HKC}_8\text{H}_4\text{O}_4$	ปริมาตร NaOH
1		
2		
3		
เฉลี่ย		

ความเข้มข้น NaOH
 (แสดงวิธีคำนวณด้วย)

สรุปผลการทดลอง.....

.....

.....

.....

.....

คำถามท้ายการทดลอง

1. เหตุใดจึงไม่สามารถใช้ NaOH เป็นสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิได้
2. Standardization หมายถึงอะไร มีวิธีการอย่างไร
3. จุดสมมูลย์ และจุดยุติแตกต่างกันอย่างไร

บทปฏิบัติการที่ 6

เรื่อง ปฏิริยาเคมี

จุดประสงค์

1. เพื่อศึกษาชนิดของปฏิริยาเคมี
2. สามารถแยกประเภทของปฏิริยาเคมีได้
3. เพื่อศึกษาสมบัติของสารออกซิไดส์และสารรีดิวส์

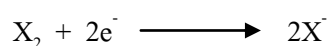
หลักการ

โดยทั่วไปแล้วปฏิริยาเคมีจะแบ่งได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ก็คือ ปฏิริยารีดอกซ์ (Redox Reaction) กับปฏิริยานอนรีดอกซ์ (Non Redox Reaction) ทั้งนี้ยึดการเปลี่ยนแปลงเลขออกซิเดชัน (Oxidation Number) เป็นเกณฑ์ เลขออกซิเดชันของธาตุที่เปลี่ยนแปลงนั้นเกี่ยวข้องกับการถ่ายเทอิเล็กตรอนระหว่างอะตอมของธาตุที่มีการให้และรับอิเล็กตรอน

ในปฏิริยารีดอกซ์นั้นประกอบด้วยสองปฏิริยาย่อย ต่อไปนี้



M = โลหะเมื่อเกิดปฏิริยาจะให้ e^- ปฏิริยาที่ให้อิเล็กตรอน เรียกว่า ปฏิริยาออกซิเดชัน (Oxidation Reaction)



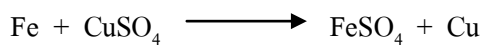
X = อโลหะ เมื่อเกิดปฏิริยาจะรับ e^- ปฏิริยาที่มีอิเล็กตรอน เรียกว่า ปฏิริยารีดักชัน (Reduction Reaction)

แต่ละปฏิริยา เรียกว่าครึ่งปฏิริยา เมื่อนำมารวมกันสามารถเขียนแสดงได้ดังนี้

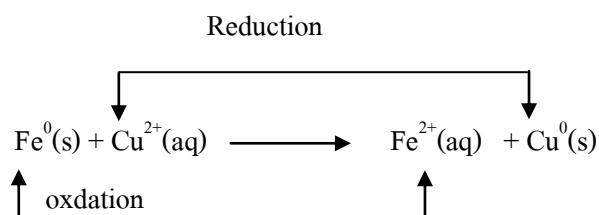


M เป็นธาตุที่ให้อิเล็กตรอนแล้วจะอยู่ในรูปได้ M^{2+} ซึ่งมีเลขออกซิเดชันเพิ่มขึ้นดังนั้น M จึงเป็นสารรีดิวส์ (Reducing Agent) ส่วน X_2 เป็นธาตุที่รับอิเล็กตรอนแล้วได้ $2X^-$ ดังนั้น X จึงเป็นสารออกซิไดส์ (Oxidising Agent)

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่าง เหล็กกับสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO_4) เป็นปฏิกิริยารีดอกซ์ เช่นเดียวกัน ซึ่งเขียนสมการเคมีได้ดังนี้



ปฏิกิริยารีดอกซ์สามารถเขียนให้อยู่ในรูปที่แสดงประจุไฟฟ้า (Ionic Equation) ได้ดังนี้



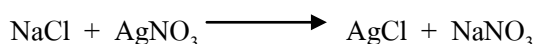
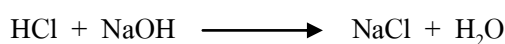
$\text{Cu}^{2+}(\text{aq})$ เป็น Oxidising Agent

$\text{Fe}(\text{s})$ เป็น Reducing Agent

แต่ถ้าเอา แท่งทองแดง จุ่มในสารละลาย FeSO_4 จะไม่เกิดปฏิกิริยา ทั้งนี้เพราะ Cu^{2+} เป็น Oxidising Agent ที่แรงกว่า Fe สามารถที่จะดึงดูดหรือรับอิเล็กตรอนได้มากกว่าจึงดึงดูด e^- จาก Fe ได้ และ Fe เป็น Reducing Agent ที่แรงกว่า Cu^{2+} สามารถจ่าย e^- ได้เร็วกว่า Cu^{2+}

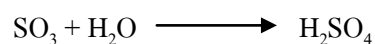
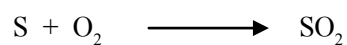
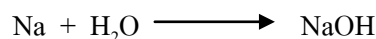
สรุปได้ว่า สารที่เป็น Oxidising Agent ที่ดีจะเป็น Reducing Agent ที่ไม่ดีและสารที่เป็น Reducing Agent ที่ดีจะเป็น Oxidising Agent ที่ไม่ดีด้วย การพิจารณาความแรงของ Oxidising Agent และ Reducing Agent นั้นดูจาก ความง่ายในการให้และรับอิเล็กตรอน

สำหรับปฏิกิริยานอนรีดอกซ์ เลขออกซิเดชันของธาตุทุกตัวในปฏิกิริยา ไม่มีการเปลี่ยนแปลงใด ๆ ทั้งสิ้น ส่วนมากเป็นปฏิกิริยาระหว่างกรดกับเบส หรือ เกลือ กับเกลือ เช่น

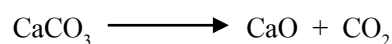
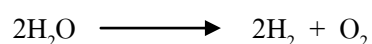


สำหรับปฏิกิริยารีดอกซ์ สามารถจำแนกได้อีก 4 ชนิด ตามลักษณะการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งของอะตอมของธาตุที่อยู่ในปฏิกิริยา ดังนี้คือ

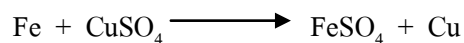
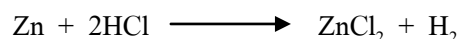
1. ปฏิกิริยาการรวมตัว (Combination Reaction) เป็นปฏิกิริยาที่เกิดจากสาร 2 ชนิด มารวมกันเป็นสารประกอบใหม่ เช่น



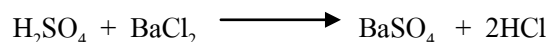
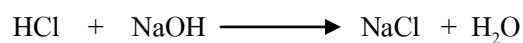
2. ปฏิกิริยาการสลายอย่างง่าย (Simple Decomposition Reaction) เกิดจากสารประกอบอย่างหนึ่งเปลี่ยนแปลงให้สารตั้งแต่ 2 ชนิด ขึ้นไป เช่น



3. ปฏิกิริยาการแทนที่อย่างง่าย (Simple Replacement Reaction) เป็นปฏิกิริยาธาตุชนิดหนึ่งเข้าไปแทนที่ธาตุอีกชนิดหนึ่งในสารประกอบได้ เช่น



4. ปฏิกิริยาการสลายสองต่อ (Double Decomposition Reaction) หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า ปฏิกิริยาการแทนที่สองต่อ (Double Replacement Reaction) เป็นปฏิกิริยา ที่อะตอมของธาตุในสารประกอบ 2 ชนิด สลับที่กันเมื่อเกิดปฏิกิริยา



อุปกรณ์และสารเคมี

หลอดทดลอง	(Test Tube)
หลอดหยด	(Dropper)
กระบอกตวง	(Graduate Cylinder)
ที่วางหลอดทดลอง	(Test Tube Rack)

แท่งแก้วคน	(Glass Rod)	
บีกเกอร์	(Beaker)	
ตะเกียงแอลกอฮอล์	(Alkohol Lamp)	
CuSO_4	(Copper (II) Sulfate)	เข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร
$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$	(Copper (II) Nitrate)	เข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร
$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	(Lead (II) Nitrate)	เข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร
$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$	(Zinc Nitrate)	เข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร
$\text{Fe}(\text{NO}_3)_2$	(Iron (II) Nitrate)	เข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร
FeCl_3	(Iron (III) Chloride)	เข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร
NaOH	(Sodium Hydroxide)	เข้มข้น 6 โมล/ลิตร
KMnO_4	(Potassium Permanganate)	เข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร
$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	(Potassium Dichomate)	เข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร
H_2O_2	(Hydrogen Peroxide)	เข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร
BaCl_2	(Barium Chloride)	เข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร
HCl		

วิธีทดลอง

ตอนที่ 1 ศึกษาปฏิกิริยาต่าง ๆ ทั้ง 4 ลักษณะ

1. ใช้เข็มจับลวดแมกนีเซียมขนาดความยาว 3 ซม. นำไปเผาไฟ สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงแล้วบันทึกผล
2. ตวงสารละลาย $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 0.1 M จำนวน 5 มล. ใส่ลงในบีกเกอร์ แล้วหยดสารละลาย 6 M NaOH ลงไปอย่างช้า ๆ ขณะเติม ให้คนสารละลายอยู่ตลอดเวลาด้วยแท่งแก้วคนสารเติม 6 M NaOH ลงไปจนสารละลายเป็นเบส ซึ่งทดสอบด้วยกระดาษลิตมัสสีแดง สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลง แล้วบันทึกผล
3. รอให้สารละลายในข้อ 2 ตกตะกอนโดยสมบูรณ์ แล้วจึงนำสารในบีกเกอร์ไปต้มประมาณ 5 นาที สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงแล้วบันทึกผล
4. จุ่มชิ้น Mg ลงในหลอดทดสอบที่มี CuSO_4 0.1 M บรรจุอยู่ 2 มล. ทิ้งไว้สักครู่ สังเกตผลการเปลี่ยนแปลง แล้วบันทึกผล

ตอนที่ 2 ศึกษาปฏิกิริยารีดอกซ์

2.1 การออกซิไดส์ซัลไฟต์

1. เตรียมสารละลาย Na_2SO_3 ใหม่ ๆ โดยละลาย Na_2SO_3 1 กรัม ในน้ำ 10-12 มล. แบ่งสารละลายเป็น 3 หลอดเท่า ๆ กัน หยด HCl ในหลอด ๆ ละ 1 หยด ทั้ง 3 หลอด
2. หลอดที่ 1 เติม สารละลาย KMnO_4 ลงไป 10 หยด เขย่าให้เท่ากัน
หลอดที่ 2 เติม H_2O_2 เข้มข้น 3 % ลงไป 10 หยด เขย่าให้เข้ากัน
หลอดที่ 3 เติมสารละลาย $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ลงไป 10 หยด เขย่าให้เข้ากัน
3. เติมสารละลาย HCl 1 หยด และสารละลาย BaCl_2 1 ml. ลงในหลอดทดลองทั้ง 3 แล้วเขย่า ถ้ามีตะกอนสีขาวเกิดขึ้นแสดงว่ามี SO_4^{2-} อยู่

2.2 ปฏิกริยาระหว่างโลหะในสารละลาย

1. ตวงสารละลาย $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ใส่ในหลอดทดลอง 3 หลอด ๆ ละ 2 มล.
2. ทำความสะอาดชิ้นสังกะสีและแท่งเหล็กหรือตะปูด้วยกระดาษทราย แล้วจุ่มในหลอดทดลองที่มีสารละลาย $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ อยู่อย่างละหลอด จากนั้นจุ่มแผ่นตะกั่วลงในหลอดทดลองที่เหลือ สังเกตการเปลี่ยนแปลงแล้วบันทึกผล
3. ทำการทดลองในทำนองเดียวกับ ข้อ 1 ข้อ 2 แต่ใช้โลหะกับสารละลายดังต่อไปนี้
สารละลาย $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ ใช้โลหะ Cu Pb และแท่งเหล็ก(ตะปู)
สารละลาย $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ใช้โลหะ Cu Zn และแท่งเหล็ก
สารละลาย $\text{Fe}(\text{NO}_3)_2$ ใช้โลหะ Cu Zn และ Pb

2.3 ปฏิกริยาระหว่าง Fe^{3+} กับ Halide

- เมื่อ Fe^{3+} ทำปฏิกิริยากับ Halide (Cl^- , Br^- , I^-) จะได้ Fe^{2+} กับ Halogen (Cl_2 , Br_2 , และ I_2)
1. ตวง KI จำนวน 2 มล. ลงในหลอดทดลอง แล้วเติม FeCl_3 และ CHCl_3 อย่างละ 1 ml. ลงไป เขย่าและสังเกตการเปลี่ยนแปลง
 2. ใช้หลอดหยดดูดสารละลายส่วนบน (จากข้อ 1 จะได้สารละลายแยกชั้นกัน ส่วนบนจะเป็นน้ำและส่วนล่างจะเป็น CHCl_3 ส่วนล่างจะมี Halogen ละลายอยู่ปรากฏสีแตกต่างกันซึ่งเป็นสมบัติเฉพาะธาตุ) ใส่หลอดทดลองที่สะอาดแล้วเติมสารละลาย $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ลงไป 1 ml. สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายบันทึกผล (ถ้าสารละลายมี Fe^{2+} จะให้สีน้ำเงินแต่ถ้าสารละลายมี Fe^{3+} จะให้สีน้ำตาล)

บทปฏิบัติการที่ 6

เรื่อง ปฏิริยาเคมี

ผู้ทดลอง1.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....
 2.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....
 3.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

วันที่ทำการทดลอง.....อาจารย์ผู้ควบคุม.....

บันทึกผลการทดลอง

ตอนที่ 1 ศึกษาปฏิกิริยารีดอกซ์ชนิดต่าง ๆ

สารที่เข้าทำปฏิกิริยา	ผลของการเกิดปฏิกิริยา
1. การเผาผลวุด Mg	
2. $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 + \text{NaOH}$	
3. ผลของปฏิกิริยาที่ 2 เมื่อนำไปต้ม	
4. $\text{CuSO}_4 + \text{Mg}$	

ข้อสังเกต สำหรับปฏิกิริยาเคมีที่มีการเปลี่ยนแปลงนั้น สังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงความร้อน การเปลี่ยนสี หรือมีตะกอนเกิดขึ้น ซึ่งจะแสดงว่าเกิดสารประกอบชนิดใหม่ขึ้นมา ในกรณีของทองแดงซึ่งเป็นธาตุทรานซิชัน สารประกอบของธาตุนี้จึงมีสีต่าง ๆ ดังนั้นอาจจะใช้สีของสารที่เกิดจากปฏิกิริยามาพิจารณาบอกชนิดของสารประกอบ

สารประกอบของ Cu^{2+}	สี
$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ (aq)	เขียว
CuSO_4 (aq)	ฟ้า
$\text{Cu}(\text{OH})_2$ (s)	ฟ้า
Cu_2O (s)	ดำ

ตอนที่ 2

2.1 การออกซิไดส์ซัลไฟท์

หลอดที่	สารออกซิไดส์	สีของ สารละลาย	ผลการทดสอบ SO_4^{2-}	สารที่ได้จากการ ออกซิไดส์
1	KMnO_4 0.1 โมล/ลิตร			
2	H_2O_2 3%			
3	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0.05 โมล/ลิตร			

2.2 ปฏิกริยาระหว่างโลหะในสารละลาย

โลหะ	สารละลาย	การเปลี่ยนแปลง (เกิด/ไม่เกิด)	สารออกซิไดส์	สารรีดิวส์
Cu	$\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$			
	$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$			
	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$			
Zn	$\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$			
	$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$			
	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$			
Fe	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$			
	$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$			
	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$			

2.3 ปฏิกริยาระหว่าง Fe^{3+}

1. สารละลายในชั้น CHCl_3 มีสี.....แสดงว่ามีธาตุ.....
ละลายอยู่

2. สารละลายในชั้นน้ำ เมื่อหยด $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ลงไปจะมีสี.....
แสดงว่ามี.....ละลายอยู่

สรุปผลการทดลอง.....
.....
.....
.....
.....

คำถามท้ายบท

1. สารที่รวมตัวกับลวดแมกนีเซียม คือ.....
สารที่ได้จากการรวมตัวคือ.....ลักษณะเป็น.....
สมการของปฏิกิริยาคือ.....
เป็นปฏิกิริยาชนิด.....
2. ผลของปฏิกิริยาระหว่าง $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 + \text{NaOH}$ คือ.....
มีลักษณะเป็น.....
สมการของปฏิกิริยาคือ.....
เป็นปฏิกิริยาชนิด.....
3. หลังจากต้มสารละลายของข้อ 2 ผลที่ได้คือ.....
เนื่องจาก.....
สมการของปฏิกิริยา.....
เป็นปฏิกิริยาชนิด.....
4. ปฏิกิริยาระหว่าง CuSO_4 กับ Mg เป็นปฏิกิริยาชนิด.....
สมการของปฏิกิริยา.....
5. ปฏิกิริยาข้อที่ 1 - ข้อที่ 4 มีปฏิกิริยาใดบ้างที่เป็นปฏิกิริยารีดอกซ์ และมีปฏิกิริยาใดบ้างเป็นปฏิกิริยานอนรีดอกซ์.....
6. จงเขียนปฏิกิริยาเคมีแบบครึ่งปฏิกิริยา (Half – Reaction หรือ Ionic Equation) ที่เกิดจาก การออกซิไดส์ ซัลไฟต์ด้วย KMnO_4 และ $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ในกรดเกลือ(HCl)
7. จงเรียงลำดับความแรงของสารออกซิไดส์ กับสารรีดิวส์ ในการเกิดปฏิกิริยา ระหว่างโลหะกับสารละลายต่าง ๆ
8. จงเขียนปฏิกิริยาระหว่าง FeCl_3 กับ KI และระบุว่าสารใดเป็นสารออกซิไดส์ และสารรีดิวส์

บทปฏิบัติการที่ 7

เรื่อง อัตราปฏิกิริยาเคมี

จุดประสงค์

1. เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา
2. เพื่อฝึกทักษะการทดลอง

หลักการ

การเกิดปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ใช้เวลาในการเปลี่ยนแปลงไม่เท่ากัน ปฏิกิริยาบางชนิดเกิดการเปลี่ยนแปลงที่เร็วมากเกิดได้ทันทีเช่นปฏิกิริยาระหว่างหินปูนกับกรด จะได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทันที บางปฏิกิริยาอาจจะใช้เวลานานในการเปลี่ยนแปลงเช่นการเกิดสนิมเหล็ก ปฏิกิริยาบางชนิดการเปลี่ยนแปลงสามารถเห็นได้ในการทดลอง การเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นภายใน 1 หน่วยเวลา จะเรียกว่า อัตราปฏิกิริยา (Rate of Reaction)

ในการหาอัตราปฏิกิริยาเคมีนั้น วัดจากความเข้มข้นที่เปลี่ยนไปของสารที่อยู่ในปฏิกิริยาภายใน 1 หน่วยเวลา หน่วยของความเข้มข้นที่ใช้เป็น โมล/ลิตร สำหรับปฏิกิริยาที่สารในปฏิกิริยาอยู่ในสถานะก๊าซ สามารถหาอัตราปฏิกิริยาได้จาก การเปลี่ยนแปลงความดัน ภายใน 1 หน่วยเวลาดังนั้นหน่วยของอัตราปฏิกิริยา จึงเป็น โมล/ลิตร/เวลา และถ้าอยู่ในสถานะก๊าซ คือ ความดัน/เวลา

ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราปฏิกิริยา

1. ธรรมชาติของสารเข้าทำปฏิกิริยา
2. อุณหภูมิ
3. ความเข้มข้นของสารเข้าทำปฏิกิริยา
4. พื้นที่ผิวของสารเข้าทำปฏิกิริยา (ในกรณีที่สารเข้าทำปฏิกิริยาไม่ได้อยู่ในวัฏภาคเดียวกัน)
5. ตัวเร่งปฏิกิริยา

1. ธรรมชาติของสารเข้าทำปฏิกิริยา สารบางอย่างชนิดจะเกิดปฏิกิริยาได้เร็วมาก เช่น การนำเอาลวด Mg เผาไฟจะเกิดการลุกไหม้อย่างรวดเร็ว ซึ่งถ้าเป็นแผ่นทองแดงจะเกิดปฏิกิริยากับอากาศได้ช้ามาก ดังนั้นอัตราปฏิกิริยาของ Mg กับอากาศและทองแดงกับอากาศจึงมีความแตกต่างกัน

2. อุณหภูมิ ปฏิกิริยาเคมีบางชนิดเกิดในที่อุณหภูมิปกติ แต่ถ้าเราเพิ่มอุณหภูมิให้กับปฏิกิริยาอาจจะทำให้เกิดเร็วขึ้นหรือบางปฏิกิริยาอาจจะเกิดช้าลงก็ได้ ซึ่งอยู่กับชนิดของปฏิกิริยา

โดยทั่วไปแล้วพบว่าถ้าเพิ่มอุณหภูมิให้กับปฏิกิริยา 10 องศาเซลเซียส อัตราปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า

3. ความเข้มข้นของสารเข้าทำปฏิกิริยา ในการที่สารเกิดปฏิกิริยาได้นั้น เนื่องจากอนุภาคของสารที่เข้าทำปฏิกิริยาปะทะกันในทิศทางที่เหมาะสมและมีพลังงานมากพอที่จะเกิดการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นถ้าเพิ่มความเข้มข้นของสารเข้าทำปฏิกิริยาเป็นการเพิ่มอนุภาคของสาร โอกาสที่อนุภาคปะทะกันดีมาก ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นได้เร็วมากขึ้น ซึ่งในทางตรงกันข้ามความเข้มข้นของสารทำปฏิกิริยาก็จะมีผลให้อัตราปฏิกิริยาลดลง

4. พื้นที่ผิวของสารเข้าทำปฏิกิริยา (ในกรณีที่สารเข้าทำปฏิกิริยาอยู่ในวัฏภาคที่แตกต่างกัน) ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นที่ผิวของสารเท่านั้นถ้าพื้นที่ผิวของสารเข้าทำปฏิกิริยามาก ปฏิกิริยาจะเกิดได้มากอัตราปฏิกิริยาจึงเร็ว และถ้าพื้นที่ผิวของสารเข้าทำปฏิกิริยาลดลงก็จะทำให้เกิดปฏิกิริยาลดลงด้วยเช่นกัน

5. ตัวเร่งปฏิกิริยา ผลของตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาคือทำให้อัตราเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เพราะตัวเร่งปฏิกิริยาจะไปลดพลังงานกระตุ้น (พลังงานต่ำสุดที่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาได้)

อุปกรณ์และสารเคมี

บีกเกอร์	(Beaker)
หลอดทดลอง	(Test Tube)
เทอร์โมมิเตอร์	(Thermometer)
นาฬิกาจับเวลา	(Stop Watch)
หลอดหยด	(Dropper)
แท่งแก้วคน	(Glass Rod)
ชอล์ก	
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	(Sodium Thiosulfate) เข้มข้น 1 N
H_2SO_4	(Sulfuric Acid) เข้มข้น 2 N
HCl	(Hydrochloric Acid) เข้มข้น
KSCN	(Potassium Thiocyanate) เข้มข้น 0.5 N
FeCl_3	(Iron (III) Chloride) เข้มข้น 0.5 N
CuSO_4	(Copper (II) Sulfate) เข้มข้น 1 N

วิธีทดลอง

ตอนที่ 1 ผลของความเข้มข้นของสารเข้าทำปฏิกิริยาที่มีต่ออัตราปฏิกิริยา

1. หยด 1 N ของ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 15 หยด ลงในหลอดทดลองหลอดที่ 1
2. หยด 1 N ของ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 5 หยด ผสมน้ำกลั่น 10 หยด เขย่าให้สารละลายผสมกันในหลอดที่ 2
3. หยด 1 N ของ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 10 หยด ผสมน้ำกลั่น 5 หยด เขย่าให้สารละลายผสมกันในหลอดที่ 3
4. หยด 2 N H_2SO_4 ใส่หลอดที่ 1 1 หยด จับเวลาจนกระทั่งสารละลายเริ่มขุ่น บันทึกเวลา
5. หยด 2 N H_2SO_4 ใส่หลอดที่ 2 1 หยด จับเวลาจนกระทั่งสารละลายเริ่มขุ่น บันทึกเวลา
6. หยด 2 N H_2SO_4 ใส่หลอดที่ 3 1 หยด จับเวลาจนกระทั่งสารละลายเริ่มขุ่น บันทึกเวลา

ตอนที่ 2 ผลของอุณหภูมิของปฏิกิริยาที่มีต่ออัตราปฏิกิริยา

1. รินน้ำใส่บีกเกอร์ โดยให้ปริมาณของน้ำสูงประมาณ $\frac{2}{3}$ ของถ้วย เตรียมทั้งสิ้นจำนวน 3 ใบ
2. ปิดฝาบีกเกอร์แต่ละใบด้วยแผ่นโพลีเอทิลีน 3 รู เพื่อเสียบเทอร์โมมิเตอร์ และหลอดทดลองใบหนึ่งตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง อีก 2 ใบ ตั้งบนเตาไฟฟ้า คำนวณให้ร้อนสูงกว่าน้ำที่อุณหภูมิห้อง 10 และ 20 องศาตามลำดับ (พยายามรักษาอุณหภูมิให้คงที่ แตกต่างประมาณ $+0.5$ องศา) เสียบเทอร์โมมิเตอร์เพื่อตรวจเช็คอุณหภูมิ
3. ตวง 2 N H_2SO_4 ลงในหลอดทดลองจำนวน 3 หลอด แล้วทำให้อุณหภูมิเท่ากับน้ำในบีกเกอร์ทั้ง 3 ด้วยการเสียบหลอดทดลองผ่านรูแผ่นโพลีเอทิลีน บีกเกอร์ละ 1 หลอด
4. หยด 1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 10 หยด ลงในหลอดทดลอง 3 หลอด แล้วทำให้มีอุณหภูมิเท่ากับน้ำในบีกเกอร์ทั้ง 3 ด้วยวิธีการเดียวกับข้อ 3
5. หยด 2 N H_2SO_4 จากหลอดทดลอง 1 หยด ลงไปทำปฏิกิริยากับ 1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ในอีกหลอดทดลองหนึ่งที่อยู่ในบีกเกอร์เดียว จับเวลาที่สารละลายเริ่มขุ่นและมีสีเหลืองเกิดขึ้นทำเช่นเดียวกับทั้ง 3 บีกเกอร์แล้วบันทึกผลการทดลองที่ได้

ตอนที่ 3 ผลของพื้นที่ผิวของสารเข้าทำปฏิกิริยาต่ออัตราปฏิกิริยา

1. ชั่งผงซัลเฟอร์ไดออกไซด์จำนวน 2 กรัม ใส่หลอดทดลองแล้วหยด HCl เข้มข้นลงไป จนท่วมผงซัลเฟอร์ แล้วจับเวลาจนกระทั่งได้สารละลายใส
2. ชั่งผงซัลเฟอร์ที่ไม่ได้บด (ขนาดเท่าๆกัน) จำนวน 2 กรัม ใส่หลอดทดลองแล้วหยด HCl เข้มข้นลงไป จำนวนเท่ากับข้อ 1 แล้วจับเวลาจนกระทั่งได้สารใส

ตอนที่ 4 ผลของตัวเร่งปฏิกิริยาต่ออัตราปฏิกิริยา

1. หยด 0.5 N KSCN จำนวน 10 หยด ใส่หลอดทดลอง 2 หลอดแล้วหยด 0.5 N FeCl_3 ลงไปหลอดละ 1 หยด
2. นำสารละลายหลอดหนึ่งมาเติม 1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 2 หยด เขย่าหลอดทดสอบ จับเวลาจนกระทั่งปฏิกิริยาเปลี่ยนแปลง
3. นำสารละลายอีกหลอดหนึ่ง มาเติม 1 N CuSO_4 1 หยด แล้วหยด 1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 2 หยด เขย่าหลอดทดสอบจับเวลาจนกระทั่งปฏิกิริยาเปลี่ยน

บทปฏิบัติการที่ 7

เรื่อง อัตราปฏิกิริยาเคมี

ผู้ทดลอง1.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....
 2.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....
 3.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

วันที่ทำการทดลอง.....อาจารย์ผู้ควบคุม.....

บันทึกผลการทดลอง

ตอนที่ 1

หลอดที่	ความเข้มข้นของ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา
1		
2		
3		

ตอนที่ 2

ปิ๊กเกอร์	อุณหภูมิของ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา
1		
2		
3		

ตอนที่ 3

ผงซอล์กละเอียด + HCl ใช้เวลา.....

ชิ้นซอล์กล + HCl ใช้เวลา.....

ตอนที่ 4

หลอดที่	สารเข้าทำปฏิกิริยา	สารเร่งปฏิกิริยา	เวลาที่ใช้
1			
2			

คำถาม

1. จากผลของปฏิกิริยาตอนที่ 1 จงสรุปผลของการเปลี่ยนความเข้มข้นของสารเข้าทำปฏิกิริยาที่มีต่ออัตราปฏิกิริยา พร้อมทั้งเขียนสมการเคมีแสดงการเกิดปฏิกิริยาประกอบ
2. จากผลของปฏิกิริยาตอนที่ 2 จงสรุปผลการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่มีต่ออัตราปฏิกิริยาปฏิกิริยาจากการทดลองเป็นปฏิกิริยาชนิดใด

บทปฏิบัติการที่ 8

เรื่อง สมดุลเคมี

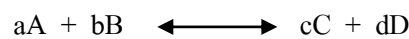
จุดประสงค์

1. เพื่อศึกษาสมดุลเคมีของปฏิกิริยา
2. เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อสมดุลเคมี
3. เพื่อศึกษาผลของไอออนร่วมชนิด (Common ion effect)
4. เพื่อฝึกทักษะในการทดลอง

หลักการ

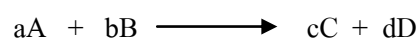
ปฏิกิริยาเคมี ที่เป็นปฏิกิริยาย้อนกลับ จะประกอบด้วย ปฏิกิริยาไปข้างหน้าและปฏิกิริยาย้อนกลับ เมื่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาไปข้างหน้าเท่ากับอัตราการเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับ จะเกิดภาวะสมดุลขึ้น เรียกว่า สมดุลเคมี (chemical equilibrium)

ปฏิกิริยาย้อนกลับ เขียนสมการได้ดังนี้

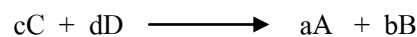


จากสมการข้างบนจะแยกได้เป็น 2 ปฏิกิริยา ดังนี้

1. ปฏิกิริยาไปข้างหน้า (Forward Reaction) คือ



2. ปฏิกิริยาย้อนกลับ (Backward Reaction) คือ



ทั้ง 2 ปฏิกิริยาต่างก็มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาเฉพาะ ซึ่งมีทิศทางการเกิดปฏิกิริยาสวนทางกันเมื่อใดก็ตามที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาของทั้งสองปฏิกิริยาเท่ากัน จะทำให้ปฏิกิริยาย้อนกลับนั้นเกิดภาวะสมดุล สมบัติของปฏิกิริยา เช่น อุณหภูมิ ความดัน และความเข้มข้นของสารในระบบจะคงที่ เมื่อนำค่าความเข้มข้นของสารในปฏิกิริยาไปอัตราส่วนความสัมพันธ์ก็จะได้ค่าคงที่ที่ค่าหนึ่งเรียกค่าที่คำนวณได้นั้นว่า

ค่าคงที่ของสมดุล (Equilibrium Constant) ซึ่งเป็นค่าเฉพาะของปฏิกิริยา ณ อุณหภูมิหนึ่งๆ เท่านั้นเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยน ค่าคงที่ของสมดุล (นิยมนแทนด้วย K จะเปลี่ยนแปลงไปด้วย

จากปฏิกิริยาข้างบน ค่า K หาได้จากสูตร

$$K = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

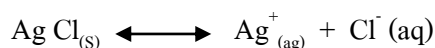
เมื่อ [A],[B],[C],[D] คือ ความเข้มข้นของสารที่มีหน่วยเป็น โมล/ลิตร

a,b,c,d คือ ตัวเลขแสดงจำนวนโมลของสารที่อยู่ในปฏิกิริยา
(สัมประสิทธิ์ที่แสดงจำนวน โมลของสารในปฏิกิริยาที่ดุลแล้ว)

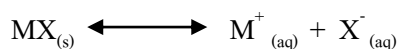
ค่า K จะคงที่เสมอที่อุณหภูมิหนึ่งๆ ถ้ามีการเปลี่ยนสภาวะแวดล้อมของระบบ เช่น ความเข้มข้นของสาร อุณหภูมิและความดัน สมดุลของระบบจะถูกรบกวนทำให้ไม่อาจอยู่ในภาวะสมดุลได้ต่อไป ระบบจะมีการปรับตัวเข้าสู่ภาวะสมดุลใหม่อีกครั้ง โดยเปลี่ยนไปในทิศทางที่ทำให้ถูกรบกวนน้อยลงค่า K ในสมดุลใหม่ จะมีค่าเท่ากับ K ของระบบก่อนถูกรบกวนการปรับตัวของระบบเพื่อให้เกิดสมดุลใหม่นี้ อธิบายได้โดยใช้หลักของ เลอ ชาเตอลิเยร์ (Le Chaterier's Principle)

สารละลายที่อิ่มตัวเป็นระบบที่อยู่ในภาวะสมดุลด้วยเพราะอัตราการละลายจะเท่ากับอัตราการตกผลึก ทำให้เห็นปริมาณของผลึกตัวถูกละลายคงเดิม ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในสารอิ่มตัวนั้นบอกรับถึงความสามารถในการละลายนั้นๆ (Solubility) ณ. อุณหภูมิที่กำหนดให้

สำหรับเกลือที่ละลายได้น้อย สมดุลเคมีเคมีจะเกิดระหว่างส่วนที่ไม่ละลายกับส่วนที่ละลายในรูปของไอออน เช่น

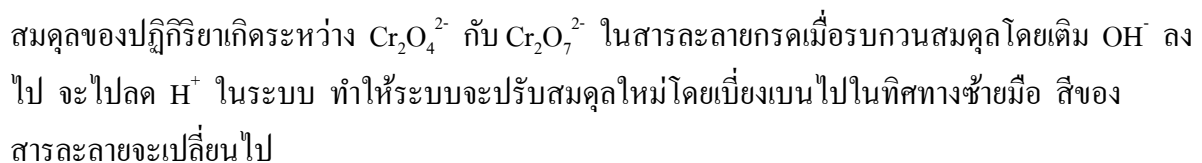


สมมุติ MX คือ เกลือที่ละลายได้น้อยชนิดหนึ่ง เมื่อนำไปละลายจะอยู่ในรูป

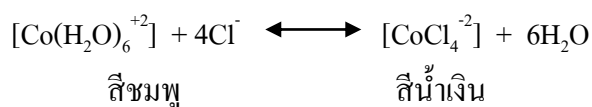


K นี้จะแทนด้วย K_{sp} (Solubility product Constant)

โครเมตไอออน (CrO_4^{2-}) เมื่อทำปฏิกิริยากับ H^+ จะได้ไฮโครเจนโครเมตไอออน (HCrO_4^-)
ซึ่งไม่เสถียรและเปลี่ยนแปลงไปเป็น $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ในที่สุด ดังสมการ



สารละลาย Co(II) ในน้ำ จะอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน (Complex ion) มีสูตร $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ ซึ่งเป็นสารละลายสีชมพู เมื่อมี Cl^- อยู่ด้วย Cl^- จะเข้าไปแทนที่โมเลกุลของน้ำในสารเชิงซ้อนอย่างรวดเร็ว เกิดเป็นสารเชิงซ้อน $[\text{CoCl}_4]^{2-}$ ซึ่งมีสีน้ำเงิน และอยู่ในน้ำภาวะที่สมดุลกันดังสมการ



$$\text{Fe}^{+3}(\text{aq}) + \text{SCN}^{-}(\text{aq}) \rightleftharpoons [\text{Fe}(\text{SCN})]^{+2}_{(\text{aq})}$$

เหล็กIII แดงเลือดนก

สารละลายอิมตัวของเกลือใดๆ หมายถึง สภาวะที่มีเกลือนั้นในรูปของแข็งอยู่ในภาวะสมดุลกับไอออนของเกลือในสารละลาย ศักยภาพทางของสมดุใหม่เมื่อรบกวนระบบ โดยพิจารณาปริมาณของส่วนที่ไม่ละลาย

หลอดทดลอง	(Test Tube)
กระบอกตวง	(Graduated Cylinder) ขนาด 10 ml
บีกเกอร์	(Beaker)
หลอดหยด	(Dropper)
K_2CrO_4	(Potassium Chromate) เข้มข้น 0.1 M
$CoCl_2$	(Cobalt (II) Chloride) เข้มข้น 0.2 M
$Fe(NO_3)_3$	(Iron (III) Nitrate) เข้มข้น 0.1 M
KSCN	(Potassium Thiocyanate) เข้มข้น 0.1 M
NaOH	(Sodium Hydroxide) เข้มข้น 6 M
H_2SO_4	(Sulfuric Acid) เข้มข้น 6 M
HCl	(Hydrochloric Acid)
$PbCl_2$	(Saturated Lead (II) Chloride)
NaCl	(Saturated Sodium Chloride)

วิธีทดลอง

ตอนที่ 1. สมดุลของโครเมต-ไดโครเมทอออน

1. ตวง K_2CrO_4 เข้มข้น 0.1 M จำนวน 3 มล. ใส่หลอดทดสอบ 2 หลอดเติม H_2SO_4 6 M ประมาณ 2–3 หยด ลงในหลอดหนึ่ง เขย่าให้ผสมกัน สังเกตสีของสารละลายโดยเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของสีกับหลอดที่ไม่ได้เติมสารใด

1. เติม 6 M NaOH 10 หยด ใส่ในหลอดที่มีการเปลี่ยนแปลง เขย่าให้สารละลายผสมกันดูการเปลี่ยนแปลง

ตอนที่ 2. สมดุลของสารประกอบเชิงซ้อนของ Co (II) อออน

1. ตวงสารละลาย $CoCl_2$ เข้มข้น 0.2 M 8 มล. ใส่บีกเกอร์แล้วเติม HCl เข้มข้นลงไป 5 ml ผสมให้เข้ากัน สารละลายที่ได้มีสีม่วง (ถ้าไม่เป็นสีม่วงให้เติมกรดทีละหยดจนกว่าจะได้สีม่วง)

2. แบ่งสารละลายออกเป็น 3 หลอด ๆ ละ เท่า ๆ กัน

หลอดที่ 1 แชน้ำร้อน (อุณหภูมิ 70 – 90 องศาเซลเซียส)

หลอดที่ 2 แชน้ำแข็ง

หลอดที่ 3 วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

บันทึกผลการทดลองที่สังเกตได้

ตอนที่ 3. สมดุลของไฮโอไซยานต-เหล็ก (II) อออน

1. ตวงสารละลาย $Fe(NO_3)_3$ 0.1 M จำนวน 10 หยด ผสมกับสารละลาย KSCN เข้มข้น 0.1 M จำนวน 10 หยด ใส่ในบีกเกอร์ แล้วเติมน้ำลงไปอีก 20 มล. ผสมให้ละลายเนื้อเดียวกัน

2. แบ่งสารละลายข้อ 3.1 ออกเป็น 4 หลอด ๆ ละ 5 มล.

หลอดที่ 1 เติม $Fe(NO_3)_3$ ลงไป 3-5 หยด บันทึกผลการเปลี่ยนแปลง

หลอดที่ 2 เติม KSCN ลงไป 3-5 หยด บันทึกผลการเปลี่ยนแปลง

หลอดที่ 3 เติม NaOH 6 M ลงไป 3-5 หยด บันทึกผลการเปลี่ยนแปลง

(ถ้าได้ตะกอนเกิดขึ้นบันทึกสีของตะกอนด้วย)

หลอดที่ 4 ไม่เติมสารใด ๆ เก็บไว้เพื่อเปรียบเทียบกับหลอดที่ 1 – 3

ตอนที่ 4 สมดุลของสารละลายอิมตัวของ NaCl หรือ $PbCl_2$

1. สมดุลของสารละลายอิ่มตัวของ NaCl หรือ PbCl_2 ที่อิ่มตัว จำนวน 2 มล. ลงในหลอดแก้ว แล้วเติมผลึก NaCl ลงไปอีกเล็กน้อย (สารละลายอิ่มตัวจะไม่ละลายส่วนที่เติมลงไปใหม่และควรทำ 2 หลอด เพื่อให้อีกหลอดหนึ่งใช้เป็นตัวเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง)
2. เติม HCl เข้มข้น 2 มล. ลงไปในหลอด สังเกตผลของปฏิกิริยา แล้วบันทึกผล
3. เติม NaOH เข้มข้น 6 M จำนวน 2 มล. ลงไปในหลอด สังเกตผลของปฏิกิริยาแล้วบันทึกผล

บทปฏิบัติการที่ 8

เรื่อง สมดุลเคมี

ผู้ทดลอง1.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

2.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

3.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

วันที่ทำการทดลอง.....อาจารย์ผู้ควบคุม.....

บันทึกผลการทดลอง

1. สมดุลของโครเมทอออน – ไดโครเมทอออน

หลอดที่	สารที่เติม	สีของสารละลาย สีเดิม → สีใหม่	ทิศทางของปฏิกิริยา
1	6M H_2SO_4		
	6M NaOH		
2	-		

2. สมดุลของสารประกอบเชิงซ้อน Co (II) อีออน

หลอดที่	อุณหภูมิ (°C)	สีของสารละลาย สีเดิม → สีใหม่	ทิศทางของปฏิกิริยา
1	0		
2	70-79		
3	ห้อง		

3. สมดุลของไฮโอไซยานต-เหล็ก (III) อีออน

หลอดที่	สารที่เติม	สีของสารละลาย สีเดิม $\longrightarrow$ สีใหม่	ทิศทางของ สมดุลใหม่	เหตุผลของการเปลี่ยนแปลง
1	$\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$			
2	KSCN			
3	6 M NaOH			

4. สมดุลของสารละลายอิ่มตัวของ NaCl และ PbCl_2

ผลการเปลี่ยนแปลง	ทิศทางของปฏิกิริยา
1. เมื่อเติม HCl	
2. เมื่อเติม NaOH	

คำถาม

- ทิศทางสมดุลของโครเมตอีออน - ไดโครเมต อีออน เมื่อเติม 6 M ของ H_2SO_4 และ 6 M ของ NaOH เป็นไปในทางเดียวกันหรือไม่ เพราะเหตุใดจึงเป็นเช่นนั้น
- จากการทดลองจงพิจารณาว่า ปฏิกิริยา $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+} + 4\text{Cl}^- \longleftrightarrow [\text{CoCl}_4]^{2-} + 6\text{H}_2\text{O}$ เป็นปฏิกิริยาชนิดดูดหรือคายความร้อน
- ผลของความเข้มข้นของสารที่เปลี่ยนไปในปฏิกิริยาที่อยู่ในสมดุลเคมี มีผลเช่นไร จงอธิบายพร้อมทั้งยกตัวอย่างประกอบ
- จากการทดลองเพื่อศึกษาสมดุลของสารละลายอิ่มตัวของ NaCl เมื่อเติม HCl และ NaOH ลงไปจะกระทบกระเทือนต่อสมดุลเคมีหรือไม่ เพราะเหตุใด

บทปฏิบัติการที่ 9

เรื่อง การหาค่า pH ของสารละลายและค่า K_a ของอินดิเคเตอร์

จุดประสงค์

1. เพื่อศึกษาหาค่า pH ของสารละลายที่มีความเข้มข้นต่างกันด้วยอินดิเคเตอร์ชนิดต่างๆ
2. เพื่อวิเคราะห์หาค่า pH ของสารละลายตัวอย่างได้
3. เพื่อวิเคราะห์หาค่า K_a โดยพิจารณาจากผลของการใช้อินดิเคเตอร์ได้
4. เพื่อฝึกทักษะการใช้เครื่องมือ

หลักการ

ในการบอกสภาพความเป็นกรดของสารละลาย จะดูได้จากปริมาณความเข้มข้นของ H^+ ในหน่วย โมล/ลิตร ซึ่งเป็นค่าที่สามารถระบุในเทอมที่เรียกว่า pH (power of Hydrogen ion) ค่าความเข้มข้นของ H^+ จะต้องเขียนให้อยู่ในรูปเลขชี้กำลังขงฐาน 10 เช่น

HCl เข้มข้น 0.01 โมล/ลิตรก็เขียนว่า 10^{-2} โมล/ลิตร

HCl เข้มข้น 0.0001 โมล/ลิตรก็เขียนว่า 10^{-4} โมล/ลิตร

ตัวเลขที่ระบุค่า pH คำนวณได้จากสูตร

$$pH = -\log [H^+] \text{ เช่น}$$

$$[H^+] = \text{ความเข้มข้นของ } [H^+] \text{ มีค่า} = 10^{-2} \text{ โมล/ลิตร}$$

$$pH = -\log 10^{-2}$$

$$= -(-2 \log 10)$$

$$= 2 (\log 10 = 1)$$

ความเข้มข้นของ H^+ มีค่า 10^{-3} โมล/ลิตร

$$pH = -\log 10^{-3}$$

$$= 3$$

จะเห็นว่าค่า pH ของสารละลายจะเปลี่ยน 1 หน่วยเมื่อ $[H^+]$ ต่างกัน 10 เท่า

ตารางเปรียบเทียบความเข้มข้นของ H^+ กับค่า pH

ความเข้มข้นของกรดแก่(โมล/ลิตร)	ความเข้มข้นของ H^+ (โมล/ลิตร)	pH
0.1	10^{-1}	1
0.01	10^{-2}	2
0.001	10^{-3}	3
0.0001	10^{-4}	4
0.00001	10^{-5}	5
0.000001	10^{-6}	6
0.0000001	10^{-7}	7
0.00000001	10^{-8}	8

ในสารละลายที่เป็นกลาง จะมี $pH = 7$

ในสารละลายที่เป็นกรด จะมี $pH < 7$

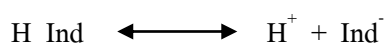
ในสารละลายที่เป็นเบส จะมี $pH > 7$

ค่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน $[H^+]$ และ pH ของสารละลายนิยม หาค่าด้วยวิธีการไม่ยุ่งยาก 2 วิธี คือ

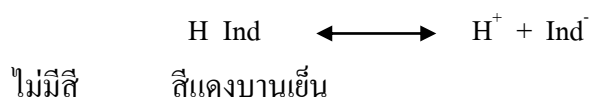
1. โดยใช้เครื่องวัดพีเอช (pH meter) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่สามารถระบุค่า pH ของสารละลายได้โดยตรง การใช้เครื่องวัด pH ก่อนข้างสะดวกและได้ค่าที่แน่นอน
2. โดยใช้สารเคมีที่เรียกว่า **อินดิเคเตอร์**

อินดิเคเตอร์ (Indicator)

เป็นสารอินทรีย์ ที่มีคุณสมบัติพิเศษ ให้สารที่มีสีในช่วง pH หรือ $[H^+]$ หนึ่งๆ ให้พิจารณาสมการที่แสดงตัวของอินดิเคเตอร์



อินดิเคเตอร์ ที่อยู่ในสารละลาย จะเกิดสมดุลเคมีเมื่อเติม H^+ หรือ OH^- ลงไป ตามหลักของเลอชาเตลิเยร์ ระบบจะปรับตัวให้เกิดสมดุลใหม่ขึ้นมา ที่สมดุลใหม่ อาจจะเลื่อนไปทางซ้ายหรือไปทางขวาก็จะทำให้สารละลายเปลี่ยนสีได้ ตัวอย่างเช่น phenolphthalein ให้สมการแสดงการแตกตัวเป็นดังนี้



ถ้าใส่ phenolphthalein ในสารละลายกรด ปริมาณ H^+ ในกรดจะมีผลกระทบต่อระบบสมดุลของ phenolphthalein ซึ่ง phenolphthalein จะต้องปรับสมดุลใหม่โดยเลื่อนไปทางด้านซ้ายมือ เกิดเป็นสารที่ไม่มีสี ซึ่งเป็นสมบัติของ phenolphthalein ที่ได้สารที่ไม่มีสีในกรด แต่ถ้าใส่ลงไปในการละลายที่เป็นเบส H^+ ที่มีอยู่ จะเข้ามารวมตัวกับ OH^- ทำให้ปริมาณของ H^+ ลดลงระบบของ phenolphthalein จะปรับสมดุล โดยเลื่อนไปทางด้านขวามือ สารละลายจึงมีสีแดง

บานเย็น

สารอินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นอินดิเคเตอร์มีหลายชนิดจะมีช่วงการเปลี่ยนสีที่แตกต่างกัน

ตัวอย่างอินดิเคเตอร์ที่นิยมใช้ แสดงดังตาราง

อินดิเคเตอร์	ช่วง pH	สีของอินดิเคเตอร์
Limus	5.0 – 8.0	แดง – น้ำเงิน
Phenolphthalein	8.2 – 10.0	ไม่มีสี – สีแดงบานเย็น
Methyl orange	3.1 – 4.4	แดง – เหลือง
Methyl red	4.4 – 6.2	แดง – เหลือง
Bromothymol blue	6.7 – 7.6	เหลือง – น้ำเงิน
Alizarin yellow	10.1 – 12.1	เหลือง – ม่วงแดง

ในปัจจุบันได้มีการนำเอาอินดิเคเตอร์หลายๆ ชนิดมาผสมกันแล้วนำมาใช้เพื่อให้ช่วง pH ในการเปลี่ยนสีแคบกว่าเดิม เรียกอินดิเคเตอร์ผสมนี้ว่า Universal Indicator

การทดลองในบทนี้ จะใช้อินดิเคเตอร์มาประกอบการพิจารณาหาความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนในสารละลายกรด – เบส ที่มีความเข้มข้นต่างๆ กัน และนำไปใช้หาค่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนในสารที่เราใช้ในชีวิตประจำวัน รวมทั้งหาค่า K_a ของกรดอ่อน

อุปกรณ์และสารเคมี

1. หลอดทดสอบ (Test Tube)
2. ที่วางหลอดทดสอบ (Test Tube Rack)
3. หลอดหยด (Dropper)
4. แท่งแก้วคน (Glass Rod)
5. HCl (Hydrochloric Acid) เข้มข้น 0.01 โมล/ลิตร

- | | | |
|-------------------------|--------------------|------------------------------|
| 6. NaOH | (Sodium Hydroxide) | เข้มข้น 0.01 โมล/ลิตร |
| 7. CH ₃ COOH | (Acetic acid) | เข้มข้น 0.5 และ 0.2 โมล/ลิตร |
| 8. สารตัวอย่าง | (Unknown Sample) | |
| 9. Litmus Paper | (Blue and red) | |
| 10. phenolphthalein | | |
| 11. Bromothymol blue | | |
| 12. Universal Indicator | | |
| 13. Alizarin Yellow | | |
| 14. Methyl orange | | |
| 15. Methyl red | | |

วิธีทดลอง

ตอนที่ 1 ศึกษาการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ต่าง ๆ ในสารละลายที่มี pH ต่างกัน

1. เตรียมสารละลาย ตั้งแต่ pH 3 – pH 6

สารละลาย pH 3 เตรียมจากตวง 0.01 M HCl 3 ml แล้วทำเป็นสารละลาย 30 ml

สารละลาย pH 4 เตรียมจากตวงสารละลาย pH 3 มา 3 ml แล้วทำเป็นสารละลาย 30 ml

สารละลาย pH 5 เตรียมจากตวงสารละลาย pH 4 มา 3 ml แล้วทำเป็นสารละลาย 30 ml

2. เตรียมสารละลายตั้งแต่ pH 11 – pH 8

สารละลาย pH 11 เตรียมจากตวง 0.01 M NaOH 3 ml แล้วทำเป็นสารละลาย 30 ml

สารละลาย pH 10 เตรียมจากสารละลาย pH 11 โดยใช้วิธีการเดียวกับการเตรียมสารละลาย 11

สารละลาย pH 9 เตรียมจากสารละลาย pH 10 โดยใช้วิธีการเดียวกับการเตรียมสารละลาย 11

สารละลาย pH 8 เตรียมจากสารละลาย pH 9 โดยใช้วิธีการเดียวกับการเตรียมสารละลาย 11

3. การตวงสารละลาย pH 2 – pH 12 ใส่หลอดทดลอง หลอดละชนิดจำนวน 2 ml (สารละลาย pH = 7 ใช้น้ำกลั่นแทน) หยด Methyl orange หลอดละ 1 หยด สังเกตสีของสารละลาย แล้วบันทึกผล

4. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3 แต่ใช้ Methyl red Bromothymol blue Alizarin Yellow และ Universal Indicator แทน Methyl orange หลอดละ 1 หยด สังเกตสีของสารละลาย แล้วบันทึกผล

ตอนที่ 2 หา pH ของสารตัวอย่าง

1. รับสารตัวอย่าง จากอาจารย์ผู้สอนแล้วนำมาทดสอบด้วย กระดาษลิตมัส เพื่อจะารู้ pH ของสารอย่างคร่าว ๆ ว่าอยู่ในช่วงใด เพื่อไปพิจารณาเลือกอินดิเคเตอร์ที่จะนำมาทดสอบ

2. ถ้า pH ของสารตัวอย่าง < 5 ให้แบ่งสารละลายตัวอย่างใส่หลอดทดลอง เป็น 2 หลอด ๆ หนึ่ง ใส่ Methyl orange อีกหลอดหนึ่งใส่ Methyl red แล้วนำไปเทียบกับสารละลายตอนที่ 1 เพื่อหา pH ถ้า pH ของสารละลายตัวอย่าง > 8 ให้แบ่งสารละลายตัวอย่างออกเป็น 2 หลอด หลอดหนึ่งใส่ phenolphthalein และ หลอดหนึ่งใส่ Alizarin Yellow แล้วนำไปเทียบกับสารละลายตอนที่ 1 เพื่อหา pH

ตอนที่ 3 หาค่า K_a ของกรดน้ำส้ม (CH_3COOH 0.5 M)

รับกรดน้ำส้มตัวอย่างที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนจากอาจารย์ผู้สอนแล้วแบ่งสารละลายเป็น 3 หลอด แต่ละหลอดหยด Methyl orange Methyl red และ Universal Indicator แล้วนำไปเปรียบเทียบกับสีของสารละลายตอนที่ 1 เพื่อหาค่า pH (นำไปคำนวณหา K_a)

ตอนที่ 4 ให้นำสารตัวอย่าง และกรดน้ำส้มอีกส่วนหนึ่งมาหาค่า pH โดยใช้ เครื่องวัด พีเอชมิเตอร์

บทปฏิบัติการที่ 9

เรื่อง การหาค่า pH ของสารละลายและค่า K_a ของอินดิเคเตอร์

ผู้ทดลอง1.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

2.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

3.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

ตอนที่ 1 ศึกษาการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ต่าง ๆ ในสารละลายที่มี pH ต่างกัน

pH	Methyl orange	Methyl red	Bromothymol blue	phenolphthalein	Alizarin Yellow	Universal Indicator
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						

ตอนที่ 2 pH ของสารละลายตัวอย่าง

pH ของสารละลายตัวอย่าง คือ.....

pH ที่แท้จริงของสารตัวอย่างคือ.....

ตอนที่ 3 กรดน้ำส้มมีความเข้มข้น.....โมลาร์

เมื่อทดสอบด้วย Methyl orange มี pH.....

เมื่อทดสอบด้วย Methyl red มี pH.....

เมื่อทดสอบด้วย Universal Indicator มี pH.....

pH ของกรดน้ำส้มที่แท้จริงคือ.....

K_a ของกรดน้ำส้ม.....

คำถาม

1. สารที่มี $\text{pH} = 2$ และ $\text{pH} = 6$ ชนิดใดที่มีปริมาณของ $[\text{H}^+]$ มากกว่ากัน และมากว่าเป็นปริมาณเท่าใด
2. สารละลาย NaOH ที่มี $\text{pH} = 11$ จะมีปริมาณ $[\text{OH}^-]$ เท่าใด
3. ถ้านำสารละลาย NH_4OH เข้มข้น 0.01 โมล/ลิตร ไปละลายน้ำ ควรทดสอบด้วยอินดิเคเตอร์ ชนิดใดจึงทราบค่า pH ที่ใกล้เคียงความจริงมากที่สุด อธิบายหลักการและเหตุผลประกอบ (กำหนด K_b ของ $\text{NH}_4\text{OH} = 1.8 \times 10^{-5}$)

บทปฏิบัติการที่ 10

เรื่อง สารละลายบัฟเฟอร์และไฮโดรไลซิส

จุดประสงค์

1. เพื่อศึกษาการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์
2. เพื่อศึกษาสมบัติของสารละลายบัฟเฟอร์
3. วิเคราะห์ประเภทของเกลือจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส
4. ฝึกทักษะการทดลอง

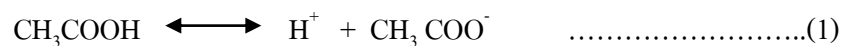
คำอธิบาย

สารละลายบัฟเฟอร์ (Buffer solution) เป็นสารละลายที่มี pH คงที่ซึ่งไม่เปลี่ยนแปลงถึงแม้ว่าจะเติมกรดแก่หรือเบสแก่ลงไปเล็กน้อย ซึ่งแตกต่างจากสารละลายโดยทั่วไป เมื่อเติมกรดหรือเบสลงไป ค่าของ pH จะเปลี่ยนแปลงไปทันที สารละลายบัฟเฟอร์ชนิดต่าง ๆ อาจเตรียมได้จาก

กรดอ่อนผสมกับเกลือของเบสอ่อน เช่น acetate buffer ($\text{CH}_3\text{COOH} + \text{CH}_3\text{COONa}$) benzoate buffer ($\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH} + \text{C}_6\text{H}_5\text{COONa}$) เบสอ่อนผสมกับเกลือของเบสอ่อน เช่น ammonium buffer ($\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{Cl}$) สารละลายบัฟเฟอร์บางชนิด ที่เป็นสารผสมของเกลือเช่น $\text{NaHCO}_3 + \text{Na}_2\text{CO}_3$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$

สารละลายบัฟเฟอร์มีความสำคัญต่อระบบการผลิตทางอุตสาหกรรม เพราะในกระบวนการผลิตบางอย่างสารที่อยู่ในกระบวนการจะต้องมี pH คงที่ ดังนั้นสารนั้นจะต้องมีคุณสมบัติเป็นสารละลายบัฟเฟอร์ จึงจะทำให้การผลิตได้รับผลผลิตที่มาก

ในสารละลายบัฟเฟอร์ของ $\text{CH}_3\text{COOH} + \text{CH}_3\text{COONa}$ ปริมาณของ $(\text{CH}_3\text{COO}^-)$ ในสารละลายจะเป็นตัวปรับสมดุลของสารละลาย ซึ่งมีผลทำให้ pH ของสารละลายคงที่ แสดงได้ดังสมการ



ถ้าเติมกรดแก่คือ H^+ ลงไป CH_3COO^- ที่มีอยู่จะมารวมกับ H^+ ส่วนที่เติมได้เป็น CH_3COOH ซึ่งแตกตัวน้อยมากทำให้ค่า H^+ ของสารละลายไม่เปลี่ยนแปลง pH จึงคงที่ถ้าเติมเบสแก่คือ OH^- ลงไป H^+ ที่มีอยู่จะมารวมตัวได้เป็น H_2O CH_3COOH ที่มีอยู่จะแตกตัวให้ H^+ มาแทนส่วนที่ขาดทำให้ (H^+) ไม่เปลี่ยนแปลง pH จึงคงที่

ในการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ให้มี pH ต่าง ๆ นั้น สามารถคำนวณหาได้ ตัวอย่างเช่นสมการ(1)

$[CH_3COO^-] =$ ความเข้มข้นของ CH_3COONa เนื่องจากแตกตัวได้สมบูรณ์ และ CH_3COONa แตกตัวได้น้อยจึงไม่นำมาคิด

$[CH_3COOH] =$ ความเข้มข้นของกรด

ดังนั้นถ้าเกลือและกรดมีจำนวนโมลเท่ากัน ค่า $pH = pKa$ (หรือ pKb ในกรณีที่เป็นเบส) นั่นเอง

ไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) เป็นปฏิกิริยาระหว่างเกลือกับน้ำแล้วให้ผลของสารละลายที่อาจจะเป็นกรด เบส หรือกลาง ขึ้นอยู่กับชนิดของเกลือที่เข้ามาทำปฏิกิริยาว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการรวมตัวของกรด – เบส ชนิดใด เช่น

1. เกลือที่เกิดจากกรดแก่รวมตัวกับเบสแก่ สารละลายที่ได้จะเป็นกลาง มี $pH = 7$
2. เกลือที่เกิดจากกรดแก่รวมตัวกับเบสอ่อน สารละลายที่ได้มีฤทธิ์เป็นกรด มี $pH < 7$
3. เกลือที่เกิดจากกรดอ่อนรวมตัวกับเบสแก่ สารละลายที่ได้มีฤทธิ์เป็นเบส มี $pH > 7$
4. เกลือที่เกิดจากกรดอ่อนรวมตัวกับเบสอ่อน สารละลายที่ได้จะมีฤทธิ์เป็นกรดหรือเบสหรือกลางก็ได้ ขึ้นอยู่กับความแรงของกรดและเบสที่มาเป็นเกลือนั้น

อุปกรณ์และสารเคมี

- | | |
|--------------------|------------------------------------|
| 1. หลอดทดสอบ | (Test Tube) |
| 2. ที่วางหลอดทดสอบ | (Test Tube Rack) |
| 3. หลอดหยด | (Dropper) |
| 4. แท่งแก้วคน | (Glass Rod) |
| 5. กระบอกตวง | (Graduate Cylinder) |
| 6. เครื่องวัด pH | (pH - meter) |
| 7. CH_3COOH | (Acetic Acid) เข้มข้น 0.1 M |
| 8. CH_3COONa | (Sodium Acetate) เข้มข้น 0.1 M |
| 9. NH_4OH | (Ammonium Hydroxide) เข้มข้น 0.1 M |
| 10. NH_4Cl | (Ammonium Chloride) เข้มข้น 0.1 M |
| 11. HCl | (Hydrochloric Acid) เข้มข้น 0.1 M |

- | | |
|---|---------------------------------------|
| 12. NaOH | (Sodium Hydroxide) เข้มข้น 0.1 M |
| 13. $\text{CH}_3\text{COONH}_4(\text{S})$ | (Ammonium Acetate Crystal) |
| 14. $\text{KNO}_3(\text{S})$ | (Potassium Nitrate Crystal) |
| 15. $\text{Na}_2\text{CO}_3(\text{S})$ | (Sodium Carbonate Crystal) |
| 16. FeSO_4 | (Iron (II) Sulfate Crystal) |
| 17. $\text{NaH}_2\text{PO}_4(\text{S})$ | (Sodium Dihydrogen Phosphate Crystal) |
| 18. $\text{NH}_4\text{NO}_3(\text{S})$ | (Ammonium Nitrate crystal) |
| 19. $\text{CH}_3\text{COONa}(\text{S})$ | (Sodium Acetate crystal) |
| 20. Universal indicator | |
| 21. Litmus paper | (blue & red) |

วิธีทดลอง

ตอนที่ 1 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

1. ตวง 0.1 M ของ CH_3COOH จำนวน 10 ml ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 ml. แล้วเติม 0.1 M ของ CH_3COONa ลงไปอีก 10 ml. ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกับสารละลายนี้เรียก **Acetate buffer**
2. แบ่งสารละลายที่ได้จากการผสม 1 ml. ใส่ในหลอดทดลองแล้วหยด Universal indicator ลงไป 1 หยด เพื่อหาค่า pH ของสารละลายแล้วบันทึกผล
3. ตวง 0.1 M ของ NH_4OH จำนวน 10 ml. ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 ml. อีกใบหนึ่งแล้วเติม 0.1 M ของ NH_4Cl ลงไปอีก 10 ml. ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน (สารละลายนี้เรียกว่า **Ammonium buffer**) แล้วทดลองหา pH ของสารละลายนี้เช่นเดียวกับข้อ 2

ตอนที่ 2 ทดสอบสมบัติของสารละลายบัฟเฟอร์

1. ตวงน้ำกลั่นบริสุทธิ์ลงในหลอดทดลองจำนวน 3 หลอด ๆ ละ 1 ml. หยด Universal indicator ลงไปหลอดละ 1 หยด สังเกตสีของสารละลาย แล้วหยด 0.1 M HCl 1 หยด ลงในหลอดที่ 2 ปริมาณ 1 หยด และหยดสารละลาย 0.1 M NaOH 1 หยด ลงในหลอดที่ 3 สังเกตสีของสารละลาย
2. ตวง acetate buffer ลงในหลอดทดลอง (แทนน้ำกลั่น) จำนวน 3 หลอด ๆ ละ 1 ml. แล้วทำการทดลอง เช่นเดียวกับข้อ 1

3. ตวง Ammonium buffer ลงในหลอดทดลอง(แทนน้ำกลั่น) จำนวน 3 หลอด ๆ ละ 1 ml. แล้วทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1

4. ตวง 1 ml. ของ acetate buffer ใส่ในบีกเกอร์ แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปอีก 50 ml. (acetate buffer เจือจาง) ผสมสารละลายที่ได้แล้วนำไปทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1

5. ตวง 1 ml. ของ ammonium buffer ใส่ในบีกเกอร์ แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปอีก 50 ml. (ammonium buffer เจือจาง) ผสมสารละลายที่ได้แล้วนำไปทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1

ตอนที่ 3 หา pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ ด้วย pH - meter

นำเอาสารละลายบัฟเฟอร์ที่เตรียมไว้ทั้ง 2 ชนิด รวมทั้งสารละลายบัฟเฟอร์ที่เจือจางแล้วไปวัดหา pH ด้วย pH – meter เพื่อเปรียบเทียบกับค่า pH ที่ได้จากอินดิเคเตอร์

ตอนที่ 4 ปฏิกริยาไฮโดรไลซิส

1. ละลาย $\text{KNO}_3(\text{s})$ จำนวนเล็กน้อย (ประมาณเท่าเม็ดถั่วเขียว) กับน้ำกลั่นจำนวน 2ml. คนจนได้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้แท่งแก้วคน จุ่มสารละลาย แล้วไปแตะกับกระดาษลิตมัสทั้งสีน้ำเงินและสีแดง สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษลิตมัส

2. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1 แต่ใช้ $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, Na_2CO_3 , FeSO_4 , NaH_2PO_4 , NH_4NO_3 และ CH_3COONa แทน KNO_3

บทปฏิบัติการที่ 10

เรื่อง สารละลายบัฟเฟอร์และไฮโดรไลซิส

ผู้ทดลอง1.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

2.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

3.....รหัสนักศึกษา.....สาขาวิชา.....

ตารางบันทึกการทดลอง ตอนที่ 1 – ตอนที่ 3

สาร	pH ที่วัดจากอินดิเคเตอร์ (คูสี)			pH ที่วัดจาก pH – meter
	ของสารละลาย	หลังเติม HCl	หลังเติม NaOH	
น้ำกลั่น (ตอนที่ 2)				
Acetate buffer				
Ammonium buffer				
Acetate buffer ที่เจือจาง				
Ammonium buffer ที่เจือจาง				

ตอนที่ 4 Hydrolysis

เกลือ	ผลต่อลิตมัส		คุณสมบัติ (กรด,เบส,เกลือ)	สูตรของกรดและเบสที่เกิดเกลือ
	น้ำเงิน	แดง		
KNO ₃				
CH ₃ COONH ₄				
Na ₂ CO ₃				
FeSO ₄				
NaH ₂ PO ₄				
NH ₄ NO ₃				
CH ₃ COONa				

หมายเหตุ ช่องผลต่อลิตมัสให้ใช้เครื่องหมาย / = มีผล , เปลี่ยนสี

X = ไม่มีผล , ไม่เปลี่ยนสี

คำถาม

1. pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ NH_4OH กับ NH_4Cl จะเกิดการเปลี่ยนแปลงหรือไม่ ถ้า
 1. เพิ่ม ปริมาณของ NH_4Cl 10 เท่า
 2. ลด ปริมาณของ NH_4Cl 10 เท่า
2. ถ้าเอาเกลือ NaCN , NH_4CN และ NaCl ละลายน้ำ สารละลายที่ได้จะมีคุณสมบัติอย่างไร อธิบาย พร้อมทั้งเขียนสมการประกอบด้วย
3. จงยกตัวอย่างของเกลือที่ละลายน้ำแล้วมี $\text{pH} < 7$ $\text{pH} > 7$ และมี $\text{pH} = 7$ มาอย่างละ 5 ชนิด

บรรณานุกรม

- กรมโรงงานอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. 2551. คู่มือการเก็บรักษาสารเคมีและวัตถุอันตราย. กรมควบคุมมลพิษ. คู่มือประชาชน การระวังภัยจากสารเคมีอันตราย. <http://pcdv1.pcd.go.th>.
- ชุดิมา ศรีวิบูลย์ 2532 เคมีวิเคราะห์ 1. พิมพ์ครั้งที่ 8. มหาวิทยาลัยรามคำแหง.
- ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์ และเปรมใจ จรัสดำรงนิตย์. 2525. อุปกรณ์และเทคนิคทางห้องปฏิบัติการ. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 270 หน้า.
- ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. 2539. เครื่องมือวิทยาศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์ศิริกัณฑ์ออฟเซต. ขอนแก่น. 259 หน้า.
- จิตติยา ศรีขวัญ 2548. คู่มือปฏิบัติการเคมีทั่วไป 1. พิมพ์ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.
- ทวีศรี พันพวงศักดิ์กุล 2533. ปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ประเสริฐ ศรีไพโรจน์. 2539. เทคนิคทางเคมี. พิมพ์ครั้งที่ 4. สำนักพิมพ์ประกายพริก. กรุงเทพฯ. 154 หน้า.
- ศุภวรรณ ตันตยานนท์. 2543. การจัดการความปลอดภัยในการทำงานกับสารเคมี. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 136 หน้า.
- Beran, J. A. 1993. Chemistry in the laboratory: A study of chemical and physical changes. John Wiley & Sons, Inc. 407 pp.
- Shugar, G. J. and J. A. Dean. 1989. The Chemist's ready reference handbook. McGrawHill, Inc., New York. pp 24.1-31.13.
- Skoog, D. A., D. M. West and F. J. Holler. 1997. Fundamentals of analytical chemistry. 7th edition. Saunders College Publishing, Florida. 890 pp.
- <http://web.ku.ac.th/schoolnet/snet5/tbalance.html>
- <http://www.md.kku.ac.th/~biochem/grad/glassware.htm>
- <http://www.merck.co.th/en/manual/msds/thai/1064/106404.htm>
- <http://www.myfirstbrain.com>
- <http://vet.kku.ac.th/physio/labbiochem/16/home.html>
- http://www.science.cmru.ac.th/envi/instrument/chapter1_t7.html

หนังสือตอบรับการเป็นผู้ทรงคุณวุฒิเพื่อประเมินตำรา

ตามที่คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
เรียนเชิญข้าพเจ้าเป็นคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิทำหน้าที่ประเมินผลงานทางวิชาการ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง เพื่อการรับรองคุณภาพประเภทงานแต่ง ระเบียบเรียง
ตำรา หรือหนังสือ ของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์มาลินี ฉินนานนท์ เรื่อง ปฏิบัติการเคมีเบื้องต้น นั้น
ข้าพเจ้าได้รับทราบแล้ว และ

- ☒ ยินดีพิจารณาผลงานทางวิชาการ
☐ ไม่สามารถพิจารณาผลงานทางวิชาการได้

ในการนี้ ข้าพเจ้าได้ให้ที่อยู่ซึ่งสามารถติดต่อได้สะดวก (พร้อมหมายเลขโทรศัพท์)
ในโอกาสต่อไป ดังนี้

.....
.....
.....

สาขาอื่นที่สามารถพิจารณาได้.....
.....
.....

ปัจจุบันดำรงตำแหน่งทางวิชาการ ☐ อาจารย์ ☒ ผศ. ☐ รศ. ☐ ศ.

คุณวุฒิทางการศึกษา/สาขาวิชา/สถาบันการศึกษา.....ปริญญาเอก สาขาวิชาเคมีอินทรีย์.....
.....

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
.....

ลงชื่อ.....เพ็ญศรี.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญศรี เพ็ญประไพ)

๕๖ / พ.ค. / ๕๗

สำนักงานคณบดี

โทร. ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

โทรสาร ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

แบบประเมินตำรา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

1. ข้อมูลเบื้องต้นของตำรา

ตำรานี้ใช้สำหรับการเรียนการสอนในรายวิชา..... สรุปสาระสำคัญของงาน
ระดับ..... ปริญญาตรี.....ภาคเรียน.....
คณะ/วิทยาลัย..... วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี การประมง

2. เกณฑ์สำหรับประเมิน

2.1 ความถูกต้องและความทันสมัยของเนื้อหา หมายถึง เนื้อหาถูกต้องตามหลักวิชาการของศาสตร์ในสาขาวิชานั้น ๆ และความถูกต้องนั้นเป็นที่ยอมรับกันว่าถูกต้องในปัจจุบัน สิ่งที่ควรพิจารณา เช่น ทฤษฎี สูตร กฎการทดลอง ข้อมูล การตีความหมาย หลักฐานการอ้างอิง ศักยภาพ ฯลฯ (ยกเว้นการเสนอ กฎ หรือทฤษฎี แนวคิดใหม่)

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.2 ความสมบูรณ์และความลึก หมายถึง ความครบถ้วนของเนื้อหาหรือเรื่องราวที่ถือเป็นขอบข่ายของชื่อตำราแต่ละบทแต่ละตอน ประกอบด้วยรายละเอียดซึ่งเป็นหลักวิชาการของศาสตร์ ในสาขาวิชานั้น ๆ มีคำอธิบายและตัวอย่าง เพื่อขยายหลักวิชาอย่างละเอียดถี่ถ้วน ครบถ้วนประกอบที่สำคัญของตำรา เช่น คำนำ สารบัญ ตาราง บัญชีภาพหรือแผนภูมิประกอบ ฯลฯ ซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่การอ่าน การค้นหาในโอกาสต่อไป

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.3 การจัดเรียงลำดับเนื้อหา หมายถึง ลำดับขั้นตอนในการเสนอเรื่องราวที่จะสอน เพื่อความเข้าใจง่ายของผู้เรียน หรือ ผู้อ่าน

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.4 รูปแบบในการเขียน หมายถึง ในแต่ละเรื่องที่เขียนระบุความคิดรวบยอดของเรื่องชัดเจนและมีการอธิบายขยายความคิดรวบยอดนั้น ๆ ในลักษณะสามารถสื่อความหมายได้ดีพอสมควร อาจมีภาพ แผนภูมิ ตาราง ฯลฯ ประกอบเพื่อความเข้าใจและให้น่าสนใจ มีความประณีตในการจัดวรรคตอนแต่ละช่องไฟ มีการอ้างอิงแหล่งวิชาการในที่ควรอ้างอิง มีแบบแผนในการเขียนอ้างอิงจัดทำบรรณานุกรมและภาคผนวกไว้อย่างเหมาะสม

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.5 การศึกษาค้นคว้าเพื่อสนับสนุนการเขียนตำรา หมายถึง ปริมาณการศึกษาค้นคว้าตำรา เอกสาร และ/หรือ รายงานการวิจัยที่จะช่วยให้ผู้เรียนมีความรู้ความสามารถ ในรายวิชานั้น หรือให้ผู้อ่านได้มีความรู้และสามารถสืบค้นเพิ่มเติมได้อย่างกว้างขวาง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.6 ความเหมาะสมและความถูกต้องในการใช้ภาษา หมายถึง การใช้ภาษาในการเขียนเป็นแบบแผนของภาษาไทย ใช้ศัพท์บัญญัติ ศัพท์ทางเทคนิค รวมทั้งตัวสะกด การเว้นวรรคถูกต้อง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.7 การเสนอแนวคิดของตนเอง หมายถึง การสอดแทรกความคิด ความเห็นเพิ่มเติมในตอนต่าง ๆ ของเรื่อง อาจจะเป็นข้อวิพากษ์วิจารณ์ คำสรุป ข้อเสนอแนะ การประยุกต์เนื้อหาสาระต่าง ๆ รวมทั้งแนวคิดและความรู้ใหม่ที่ เกิดจากการวิเคราะห์และสังเคราะห์

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.8 คุณค่าของตำรา หมายถึง ประโยชน์ ความสำคัญและความเชื่อถือได้ ในการที่นำตำรา ไปใช้ประกอบการสอน หรือใช้เพื่อสื่อการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม และใช้อ้างอิง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.9 ความเห็นอื่น ๆ

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

3. สรุปผลการประเมินตำรา

(โดยจะต้องสอดคล้องกับเกณฑ์การประเมินในข้อ 2.1-2.8)

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะและส่งผลงานให้อ่านใหม่อีกครั้ง
3. ☐ ต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะก่อนเผยแพร่ผลงานครั้งใหม่
4. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

4. สรุปผลประเมิน โปรดสรุปผลการประเมินผลงานตำรา และเสนอความคิดเห็นด้วย (โปรดดูตัวอย่าง)

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ลงชื่อ..... ๖๗๘๕..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิฯ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญศรี เพ็ญประไพ)

๘ / พ.ค. / ๕๖

ตัวอย่าง (การบันทึกสรุปของผู้อ่าน)

ตำราเรื่อง.....นี้มีเนื้อหาเกี่ยวกับ.....

มีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์ดีมาก ได้เสนอความคิดใหม่ที่น่าเป็นไปได้เกี่ยวกับ.....

ได้สำรวจความคิดเห็นของบุคคลต่าง ๆ รวมทั้งได้ประมวลและสรุปไว้ชัดเจน ซึ่งถือเป็นงานที่มีความคิดริเริ่ม อันอาจนำไปใช้ประโยชน์และก่อให้เกิดการพัฒนาการเรียนการสอนในสาขาวิชานี้ได้เป็นอย่างดี

หนังสือตอบรับการเป็นผู้ทรงคุณวุฒิเพื่อประเมินตำรา

ตามที่คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
เรียนเชิญข้าพเจ้าเป็นคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิทำหน้าที่ประเมินผลงานทางวิชาการ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง เพื่อการรับรองคุณภาพประเภท งานแต่ง เรียบเรียง
ตำรา หรือหนังสือ ของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์มาลินี ฉินนานนท์ เรื่อง ปฏิบัติการเคมีเบื้องต้น นั้น
ข้าพเจ้าได้รับทราบแล้ว และ

- ☒ ยินดีพิจารณาผลงานทางวิชาการ
☐ ไม่สามารถพิจารณาผลงานทางวิชาการได้

ในการนี้ ข้าพเจ้าได้ให้ที่อยู่ซึ่งสามารถติดต่อได้สะดวก (พร้อมหมายเลขโทรศัพท์)

ในโอกาสต่อไป ดังนี้

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มทร. ศรีวิชัย อ.ทุ่งสง

อ.นพศรีธรรมพร 80110 โทร 084-0583641

สาขาอื่นที่สามารถพิจารณาได้.....

ปัจจุบันดำรงตำแหน่งทางวิชาการ ☐ อาจารย์ ☒ ผศ. ☐ รศ. ☐ ศ.

คุณวุฒิทางการศึกษา/สาขาวิชา/สถาบันการศึกษา.....

วท.ม. เคมี ศึกษา (เคม้อเนกวิทย์)

ม. สุวรรณคฤหิณฑ์ ภาควิชา

ลงชื่อ..... ส. ทม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุภามาส อินทฤทธิ์)

วันที่ 27 / พค / 57

สำนักงานคนบดี

โทร. ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

โทรสาร ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

แบบประเมินตำรา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

1. ข้อมูลเบื้องต้นของตำรา

ตำรานี้ใช้สำหรับการเรียนการสอนในรายวิชา.....ปฏิบัติการเคมีเบื้องต้น.....
ระดับ.....ภาคเรียน.....
คณะ/วิทยาลัย.....

2. เกณฑ์สำหรับประเมิน

2.1 ความถูกต้องและความทันสมัยของเนื้อหา หมายถึง เนื้อหาถูกต้องตามหลักวิชาการของศาสตร์ในสาขาวิชานั้น ๆ และความถูกต้องนั้นเป็นที่ยอมรับกันว่าถูกต้องในปัจจุบัน สิ่งที่ควรพิจารณา เช่น ทฤษฎี สูตร กฎการทดลอง ข้อมูล การตีความหมาย หลักฐานการอ้างอิง ศักยภาพ ฯลฯ (ยกเว้นการเสนอ กฎ หรือทฤษฎี แนวคิดใหม่)

เนื้อหาครบถ้วน ถูกต้อง สมบูรณ์

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2.2 ความสมบูรณ์และความลึก หมายถึง ความครบถ้วนของเนื้อหาหรือเรื่องราวที่ถือเป็นขอบข่ายของชื่อตำราแต่ละบทแต่ละตอน ประกอบด้วยรายละเอียดซึ่งเป็นหลักวิชาการของศาสตร์ ในสาขานั้น ๆ มีคำอธิบายและตัวอย่าง เพื่อขยายหลักวิชาอย่างละเอียดถี่ถ้วน ควรมีส่วนประกอบที่สำคัญของตำรา เช่น คำนำ สารบัญ ตาราง บัญชีภาพหรือแผนภูมิประกอบ ฯลฯ ซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่การอ่าน การค้นหาในโอกาสต่อไป

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2.3 การจัดเรียงลำดับเนื้อหา หมายถึง ลำดับขั้นตอนในการเสนอเรื่องราวที่จะสอน เพื่อความเข้าใจง่ายของผู้เรียน หรือ ผู้อ่าน

เนื้อหาเรียงตามลำดับขั้นตอนดีมาก

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.4 รูปแบบในการเขียน หมายถึง ในแต่ละเรื่องที่เขียนระบุความคิดรวบยอดของเรื่องชัดเจนและมีการอธิบายขยายความคิดรวบยอดนั้น ๆ ในลักษณะสามารถสื่อความหมายได้ดีพอสมควร อาจมีภาพ แผนภูมิ ตาราง ฯลฯ ประกอบเพื่อความเข้าใจและให้น่าสนใจ มีความประณีตในการจัดวรรคตอนแต่ละช่องไฟ มีการอ้างอิงแหล่งวิชาการในที่ควรอ้างอิง มีแบบแผนในการเขียนอ้างอิงจัดทำบรรณานุกรมและภาคผนวกไว้อย่างเหมาะสม

ภาพพิมพ์สวยงาม น่าดู

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.5 การศึกษาค้นคว้าเพื่อสนับสนุนการเขียนตำรา หมายถึง ปริมาณการศึกษาค้นคว้าตำรา เอกสาร และ/หรือ รายงานการวิจัยที่จะช่วยให้ผู้เรียนมีความรู้ความสามารถ ในรายวิชานั้น หรือให้ผู้อ่านได้มีความรู้และสามารถสืบค้นเพิ่มเติมได้อย่างกว้างขวาง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☐ ดีมาก ☒ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.6 ความเหมาะสมและความถูกต้องในการใช้ภาษา หมายถึง การใช้ภาษาในการเขียนเป็นแบบแผนของภาษาไทย ใช้ศัพท์บัญญัติ ศัพท์ทางเทคนิค รวมทั้งตัวสะกด การเว้นวรรคถูกต้อง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.7 การเสนอแนวคิดของตนเอง หมายถึง การสอดแทรกความคิด ความเห็นเพิ่มเติมในตอนต่าง ๆ ของเรื่อง อาจจะเป็นข้อวิพากษ์วิจารณ์ คำสรุป ข้อเสนอแนะ การประยุกต์เนื้อหาสาระต่าง ๆ รวมทั้งแนวคิดและความรู้ใหม่ที่เกิดจากการวิเคราะห์และสังเคราะห์

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2.8 คุณค่าของตำรา หมายถึง ประโยชน์ ความสำคัญและความเชื่อถือได้ ในการที่นำตำรา ไปใช้ประกอบการสอน หรือใช้เพื่อสื่อการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม และใช้อ้างอิง

เนื้อหาถูกต้อง เหมาะสม หาค่าไปประกอบการสอนได้ดี

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2.9 ความเห็นอื่น ๆ

3. สรุปผลการประเมินตำรา

(โดยจะต้องสอดคล้องกับเกณฑ์การประเมินในข้อ 2.1-2.8)

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☐ ดีมาก ☒ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะและส่งผลงานให้อ่านใหม่อีกครั้ง
3. ☐ ต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะก่อนเผยแพร่ผลงานครั้งใหม่
4. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

4. สรุปผลประเมิน โปรดสรุปผลการประเมินผลงานตำรา และเสนอความคิดเห็นด้วย (โปรดดูตัวอย่าง)

เอกสารปกปกผลงาน ปฏิบัติงานวิจัยข้อเสนอแนะ
มีข้อเสนอแนะเพิ่มเติม เอกสารสรุปปกปกผลงานใหม่

ลงชื่อ.....วิภากร..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิฯ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุภามาส อินทฤทธิ์)
๒๗ / ๗๐ / ๕๗

หนังสือตอบรับการเป็นผู้ทรงคุณวุฒิเพื่อประเมินตำรา

ตามที่คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
เรียนเชิญข้าพเจ้าเป็นคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิทำหน้าที่ประเมินผลงานทางวิชาการ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง เพื่อการรับรองคุณภาพประเภท งานแต่ง เรียบเรียง
ตำรา หรือหนังสือ ของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์มาลินี ฉินนนานนท์ เรื่อง ปฏิบัติการเคมีเบื้องต้น นั้น
ข้าพเจ้าได้รับทราบแล้ว และ

- ☒ ยินดีพิจารณาผลงานทางวิชาการ
☐ ไม่สามารถพิจารณาผลงานทางวิชาการได้

ในการนี้ ข้าพเจ้าได้ให้ที่อยู่ซึ่งสามารถติดต่อได้สะดวก (พร้อมหมายเลขโทรศัพท์)
ในโอกาสต่อไป ดังนี้

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มทร.ศรีวิชัย จ. สงขลา
179 ม. 3 ต. ไม้ฝาด อ. สทิงพระ จ. สงขลา 92150
086 - 2969616
สาขาอื่นที่สามารถพิจารณาได้.....เคมีอนาโร.....หลักการวิเคราะห์อาหาร.....ชีวเคมี

ปัจจุบันดำรงตำแหน่งทางวิชาการ ☐ อาจารย์ ☒ ผศ. ☐ รศ. ☐ ศ.

คุณวุฒิทางการศึกษา/สาขาวิชา/สถานประกอบการ.....ปริญญาโท สาขาชีวเคมี
ม. สงขลา นครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จ. สงขลา

ลงชื่อ.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อุไรวรรณ วัฒนกุล)
21 / พ.ค. / 57

สำนักงานคณบดี

โทร. ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

โทรสาร ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

แบบประเมินตำรา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

1. ข้อมูลเบื้องต้นของตำรา

ตำรานี้ใช้สำหรับการเรียนการสอนในรายวิชา..... ปฏิบัติการเคมีเบื้องต้น , ปฏิบัติการเคมีพื้นฐาน
ระดับ..... ปรีพหุตรีภาคเรียน.....
คณะ/วิทยาลัย..... คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

2. เกณฑ์สำหรับประเมิน

2.1 ความถูกต้องและความทันสมัยของเนื้อหา หมายถึง เนื้อหาถูกต้องตามหลักวิชาการของศาสตร์ในสาขาวิชานั้น ๆ และความถูกต้องนั้นเป็นที่ยอมรับกันว่าถูกต้องในปัจจุบัน สิ่งที่ควรพิจารณา เช่น ทฤษฎี สูตร กฎการทดลอง ข้อมูล การตีความหมาย หลักฐานการอ้างอิง ศัพท์ ฯลฯ (ยกเว้นการเสนอ กฎ หรือทฤษฎี แนวคิดใหม่)

ถูกต้อง ครบถ้วน ตามหลักวิชาการของ สาขาวิชา.....
.....
.....
.....
.....
.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.2 ความสมบูรณ์และความลึก หมายถึง ความครบถ้วนของเนื้อหาหรือเรื่องราวที่ถือเป็นขอบข่ายของชื่อตำราแต่ละบทแต่ละตอน ประกอบด้วยรายละเอียดซึ่งเป็นหลักวิชาการของศาสตร์ ในสาขาวิชานั้น ๆ มีคำอธิบายและตัวอย่าง เพื่อขยายหลักวิชาอย่างละเอียดถี่ถ้วน ควรมีส่วนประกอบที่สำคัญของตำรา เช่น คำนำ สารบัญ ตาราง บัญชีภาพหรือแผนภูมิประกอบ ฯลฯ ซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่การอ่าน การค้นหาในโอกาสต่อไป

มีข้อมูลประกอบ ครบถ้วน
.....
.....
.....
.....
.....
.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.3 การจัดเรียงลำดับเนื้อหา หมายถึง ลำดับขั้นตอนในการเสนอเรื่องราวที่จะสอน เพื่อความเข้าใจง่ายของผู้เรียน หรือ ผู้อ่าน

เหมาะสมตาม ลำดับความ จากง่าย ผู้เรียนสามารถทำความเข้าใจได้ง่าย

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.4 รูปแบบในการเขียน หมายถึง ในแต่ละเรื่องที่เขียนระบุความคิดรวบยอดของเรื่องชัดเจนและมีการอธิบายขยายความคิดรวบยอดนั้น ๆ ในลักษณะสามารถสื่อความหมายได้ดีพอสมควร อาจมีภาพ แผนภูมิ ตาราง ฯลฯ ประกอบเพื่อความเข้าใจและให้น่าสนใจ มีความประณีตในการจัดวรรคตอนแต่ละช่องไฟ มีการอ้างอิงแหล่งวิชาการใน ที่ควรอ้างอิง มีแบบแผนในการเขียนอ้างอิงจัดทำบรรณานุกรมและภาคผนวกไว้อย่างเหมาะสม

มีความเหมาะสม และอธิบายความหมายได้กระจับ แต่ควรมีการจัดวางการ
บรรทัดตอน ช่องไฟ และกันหน้า - กันหลัง ให้เท่ากันหมดทั่วเล่ม จะมีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น
และในส่วนบรรณานุกรม จากอินเทอร์เน็ต ควรใช้รูปแบบอ้างอิงตามหลักการเขียนหนังสือ
เพื่อส่งเสริมให้นักเรียนสามารถนำไปต่อยอดเนื้อหาในภายหลัง

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2.5 การศึกษาค้นคว้าเพื่อสนับสนุนการเขียนตำรา หมายถึง ปริมาณการศึกษาค้นคว้าตำรา เอกสาร และ/หรือ รายงานการวิจัยที่จะช่วยให้ผู้เรียนมีความรู้ความสามารถ ในรายวิชานั้น หรือให้ผู้อ่านได้มีความรู้และสามารถสืบค้นเพิ่มเติมได้อย่างกว้างขวาง

ควรเพิ่มเติมรายงานการวิจัยที่สอดคล้องกับบทปฏิบัติการ เพื่อให้ผู้อ่าน เกิดแนวคิด ต่อ ราชวิชา และสามารถประยุกต์ใช้งานได้จริงในอนาคต

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2.6 ความเหมาะสมและความถูกต้องในการใช้ภาษา หมายถึง การใช้ภาษาในการเขียนเป็นแบบแผนของภาษาไทย ใช้ศัพท์บัญญัติ ศัพท์ทางเทคนิค รวมทั้งตัวสะกด การันต์ ถูกต้อง

มีความเหมาะสม และถูกต้องทุกประการ

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.7 การเสนอแนวคิดของตนเอง หมายถึง การสอดแทรกความคิด ความเห็นเพิ่มเติมในตอนต่าง ๆ ของเรื่อง อาจจะเป็นข้อวิพากษ์วิจารณ์ คำสรุป ข้อเสนอแนะ การประยุกต์เนื้อหาสาระต่าง ๆ รวมทั้งแนวคิดและความรู้ใหม่ที่ เกิดจากการวิเคราะห์และสังเคราะห์

หากสามารถเพิ่มทีม กรอบแนวคิด การต่อ ยอดของผู้เรียน จะทำให้เกิดความ
สมบูรณ์ ต่อรายวิชา นี้มากยิ่งขึ้น

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ୧୧

2.8 คุณค่าของตำรา หมายถึง ประโยชน์ ความสำคัญและความเชื่อถือได้ ในการที่นำตำรา ไปใช้ประกอบการสอน หรือใช้เพื่อสื่อการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม และใช้อ้างอิง

มีคุณค่าเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในการเรียนการสอน

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

୧୩

2.9 ความเห็นอื่น ๆ

3. สรุปผลการประเมินตำรา

(โดยจะต้องสอดคล้องกับเกณฑ์การประเมินในข้อ 2.1-2.8)

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะและส่งผลงานให้อ่านใหม่อีกครั้ง
3. ☐ ต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะก่อนเผยแพร่ผลงานครั้งใหม่
4. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

4. สรุปผลประเมิน โปรดสรุปผลการประเมินผลงานตำรา และเสนอความคิดเห็นด้วย

(โปรดดูตัวอย่าง)

ตำราเรื่อง ปฏิบัติการเคมีเบื้องต้น / ปฏิบัติการเคมีพื้นฐาน มีเนื้อหาเกี่ยวกับ ทฤษฎี และบทปฏิบัติการ ทดสอบสารเคมี กระบวนการทางเคมีเบื้องต้น การเตรียมสารเคมี และทดสอบในห้องปฏิบัติการเคมี ซึ่งมีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์ดีมาก ทั้งนี้เพราะมีการรวบรวม และสรุปความรู้ทางด้านเคมีเบื้องต้น มาหาเสนอแนวคิดที่ถูกต้อง ชัดเจน สื่อเป็นงานที่มีคุณภาพ เหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์ และก่อให้เกิด การพัฒนา การเรียนการสอนในสาขาวิชา ได้เป็นอย่างดี

ลงชื่อ..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิฯ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อุไรวรรณ วัฒนกุล)
๒๑ / พ.ค. / ๕๖



การเพาะเลี้ยงสาหร่าย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์มานิช ขำเจริญ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

วิทยาเขตตรัง

2557

คำนำ

เอกสารประกอบการสอน การเพาะเลี้ยงสาหร่าย ฉบับนี้ เป็นเอกสารที่ใช้ประกอบการเรียน ในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ซึ่งมีเนื้อหาสาระเกี่ยวกับ การศึกษาประวัติ ชนิด การจัดหมวดหมู่ การแพร่กระจาย การเพาะเลี้ยง การเก็บเกี่ยว และการใช้ประโยชน์จากสาหร่าย

ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่า เอกสารการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ฉบับนี้ คงจะเป็นประโยชน์แก่ ผู้ที่สนใจ เอกสารเล่มนี้อาจมีข้อผิดพลาดบ้าง ผู้เขียนยินดีรับคำติชมจากผู้รู้ทั้งหลายเพื่อเป็นข้อมูล ในการพัฒนาปรับปรุงเอกสารเล่มนี้ให้ดียิ่งขึ้นต่อไป

ในการเรียบเรียงเอกสารเล่มนี้ ผู้เขียนขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่าน ที่ได้อบรมสั่งสอน และผู้เขียนตำราทุกท่าน ที่ข้าพเจ้า นำมาเป็นเอกสารอ้างอิงประกอบการเรียบเรียง

มานิช จำเจริญ

2557

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทที่ 1 ประวัติความเป็นมาและความสำคัญของสาหร่าย	1
บทที่ 2 ตำแหน่งสาหร่ายในอาณาจักรสิ่งมีชีวิตและการจัดหมวดหมู่	5
บทที่ 3 ลักษณะทางชีววิทยาของสาหร่าย	10
บทที่ 4 การจัดจำแนกสาหร่ายในทางอนุกรมวิธาน	18
บทที่ 5 หลักการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช	34
บทที่ 6 วิธีการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช	60
บทที่ 7 สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช	90
บทที่ 8 หลักในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดใหญ่	112
บทที่ 9 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดใหญ่	115
บทที่ 10 ประโยชน์และโทษของสาหร่าย	122
บทที่ 11 สารสกัดจากสาหร่าย	127
เอกสารอ้างอิง	130

บทที่ 1

ประวัติความเป็นมาและความสำคัญของสาหร่าย

1.1 ความหมายและรากศัพท์ของสาหร่าย

คำว่า “สาหร่าย” ตามความเข้าใจของคนทั่วไป หมายถึงพืชที่ขึ้นอยู่ในน้ำ ทั้งพืชชั้นต่ำและพืชชั้นสูง. ในพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถาน พ.ศ. 2525 ให้ความหมายคำว่า “สาหร่าย” ว่า เป็นพืชจำพวกหนึ่ง (*Najas graminea*) ในวงศ์ Najadaceae เกิดอยู่ในน้ำ.

ส่วนคำว่า “สาหร่าย” ในที่นี้หมายถึงพืชชั้นต่ำ ที่ตรงกับคำภาษาอังกฤษว่า “algae” (เอกพจน์ alga) ซึ่งเป็นพืชชั้นต่ำมีคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) แต่ไม่มีส่วนที่เป็นราก ลำต้น และใบที่แท้จริง มีขนาดตั้งแต่เล็กมาก ประกอบด้วยเซลล์เพียงเซลล์เดียว ซึ่งมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า ต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ไปจนถึงขนาดใหญ่ ประกอบด้วยเซลล์จำนวนมาก อาจเป็นเส้นสาย (filament) หรือมีลักษณะคล้ายพืชชั้นสูง โดยมีส่วนที่คล้ายราก ลำต้น และใบ รวมเรียกว่า ทัลลัส (thallus)

สำหรับวิชาที่ว่าด้วยสาหร่ายนั้น อาจใช้ Algology หรือ Phycology. Algology มาจากคำว่า alga + logy ส่วน Phycology นั้น มาจากคำว่า phykos + logy คำว่า phykos ตามศัพท์แปลว่า พืชทะเล หรือสาหร่ายทะเล (seaweed) ดังนั้นวิชา Phycology ถึงแม้ตามศัพท์จะแปลว่าวิชาที่ว่าด้วยสาหร่ายทะเลก็ตาม แต่ตามความหมายที่แท้จริงแล้ว หมายถึงวิชาที่ว่าด้วยสาหร่ายทั้งน้ำจืดและน้ำเค็ม เช่นเดียวกับวิชา Algology

คำว่า “phykos” เป็นภาษากรีก แปลว่า “seaweed” ตั้งขึ้นโดย THEOPHRASTUS เมื่อประมาณ 300 ปีก่อนคริสตกาล ต่อมาชาวโรมันเปลี่ยนมาใช้คำว่า “fucus” และ CARL LINNAEUS (หรือ CAROLUS LINNAEUS) ชาวสวีเดน ได้นำคำนี้มาตั้งชื่อสาหร่ายสกุลหนึ่งว่า *fucus*

1.2 ประวัติทางด้านอนุกรมวิธาน

ประวัติและความเป็นมาของวิชาสาหร่าย ที่จะกล่าวถึงต่อไปนี้ เรียบเรียงมาจาก Prescott (1951b), Dawson (1966) และ Papenfuss (1976)

งานทางด้านสาหร่ายได้เริ่มมานานแล้ว ตั้งแต่สมัยนักวิทยาศาสตร์เริ่มให้ความสนใจศึกษาสิ่งมีชีวิตในน้ำ ถึงแม้งานด้านนี้จะเริ่มจากทวีปยุโรปก็ตาม จีนนับว่าเป็นชนชาติที่รู้จักการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายมาก่อน โดยชาวจีนโบราณเป็นผู้เขียนเรื่องราวเกี่ยวกับสาหร่ายไว้เป็นครั้งแรกใน “Materia medica” ซึ่งเป็นตำรายาโบราณ กล่าวถึงการใช้สาหร่ายบางชนิดเป็นอาหาร คือ *Nostoc* (สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน), *Hydrodictyon* (สาหร่ายสีเขียว) และ *Laminaria* (สาหร่ายสีน้ำตาล) สำหรับใช้เป็นยา

นักวิทยาศาสตร์ที่ทำการศึกษาร่องรอยของสาหร่ายในช่วงก่อนปี ค.ศ. 1800 ที่ได้รับการยกย่องได้แก่ CARL LINNAEUS และ SAMUEL GOTTLIEB GMELIN ผลงานของ LINNAEUS ที่ปรากฏใน ค.ศ. 1747 ได้แก่ การตั้งชื่อสกุลพืชกลุ่มหนึ่งรวมทั้งสาหร่ายขึ้นเป็นครั้งแรก นับว่าเป็นจุดเริ่มต้นที่สำคัญมาก ส่วนผลงานของ GMELIN นั้น ได้แก่ การคิดวิธีการเก็บสาหร่ายในลักษณะที่เป็นตัวอย่างอัดแห้ง วิธีการนี้แพร่หลายออกไปทั่วยุโรป และมีส่วนช่วยในการวิเคราะห์และจัดหมวดหมู่ทางอนุกรมวิธาน นอกจากนี้ GMELIN ได้พิมพ์หนังสือชื่อ “Historium Fucorum” ขึ้นใน ค.ศ. 1768 ซึ่งนับว่าเป็นหนังสือเกี่ยวกับพืชทะเลเล่มแรก.

ระหว่างปี ค.ศ. 1800 – 1875 จัดว่าเป็นยุคทองของพฤกษอนุกรมวิธาน (Golden Age of Plant Taxonomy) ได้มีผู้ทำการศึกษาในเรื่องพืชชั้นต่ำ และพืชชั้นสูง รวมทั้งสาหร่ายกันอย่างกว้างขวาง นักวิทยาศาสตร์ที่นำความรู้ในเรื่องของการสืบพันธุ์ และวัฏจักรชีวิต (life cycle) เข้ามามีส่วนสัมพันธ์กับงานด้านอนุกรมวิธานของสาหร่าย ได้แก่ JOHANN HEDWIG และ JEAN PIERRE ETIENNE VAUCHER. ปี ค.ศ. 1809 JOHN STACKHOUSE ได้จัดจำแนกสาหร่ายไว้ 38 สกุล และนำลงพิมพ์ใน “Memoirs of the Imperial Society of Naturalist” ที่กรุงมอสโก เนื่องในระบายนั้นเป็นช่วงที่เกิดสงครามโปเลียน สิ่งพิมพ์นี้จึงไม่แพร่หลายเข้ามาในทวีปยุโรป ส่วนใหญ่ถูกทำลายเมื่อกรุงมอสโกถูกเผา ส่วนที่เหลือก็ไม่มีใครได้เห็น จนเวลาล่วงเลยมาหลายสิบปี อย่างไรก็ตาม ผลงานของ STACKHOUSE นับว่ามีคุณค่ามากสำหรับนักวิทยาศาสตร์รุ่นต่อมา ภายหลังจึงได้รับการยกย่องว่าเป็นบิดาแห่งการตั้งชื่อสาหร่ายทะเล

นักวิทยาศาสตร์อีกท่านหนึ่งที่สมควรกล่าวถึง ได้แก่ JEAN VINCENT FELIX LAMOUROUX แห่งประเทศฝรั่งเศส มีผลงานที่พิมพ์ในระหว่าง ค.ศ. 1805 – 1816 ซึ่งนับว่ามีความสำคัญมากในประวัติศาสตร์ของการศึกษาทางด้านสาหร่ายทะเล ผลงานส่วนใหญ่เป็นการจัดจำแนกสาหร่ายเป็นดิวิชัน (Division) อันดับ (Order) และสกุล (Genus) โดยใช้การสืบพันธุ์และลักษณะโครงสร้างของทาลัสเป็นหลัก นอกจากนี้ยังจัดแบ่งสาหร่ายออกเป็นสีเขียว, สีน้ำตาล และ สีแดง โดยใช้สีเป็นหลัก จากผลงานของ LAMOUROUX ทำให้ความรู้ทางด้านสาหร่ายทะเล แพร่กระจายออกไปอย่างกว้างขวาง

นอกจากนี้ยังมีนักวิทยาศาสตร์อื่น ๆ ที่มีชื่อเสียงควรแก่การยกย่อง อาทิเช่น HANS CHRISTIAN LYNGBYE ชาวเดนมาร์ก, BORY ชาวฝรั่งเศส, ROBERT KAYE GREVILLE ชาวอังกฤษ, CARL ADOLF AGARDH ชาวสวีเดน และบุตรชาย JACOB GEORGE AGARDH, C.A. AGARDH เป็นศาสตราจารย์ทางพฤกษศาสตร์แห่งมหาวิทยาลัย Lund, ได้เริ่มรวบรวมสาหร่ายมาตั้งแต่ต้นศตวรรษที่ 19 ในระยะแรกรวบรวมเฉพาะสาหร่ายในประเทศสวีเดน และจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน ต่อมาได้ขยายกว้างออกโดยรวบรวมจากที่ต่าง ๆ ทั่วโลก ดังนั้นประเทศสวีเดนจึงเป็นแหล่งรวมสาหร่ายแหล่งแรกที่มีชื่อเสียงมาก J.G.AGARDH ผู้บุตรได้เจริญรอยตามบิดา ทั้งคู่ได้ทำการศึกษาและเขียนหนังสือเกี่ยวกับสาหร่ายไว้มาก ตลอดช่วงชีวิตอันยาวนานติดต่อกันมา จนถึงศตวรรษที่ 20 แต่เป็นที่น่าเสียดาย ที่ผลงานของ J.G.AGARDH ซึ่งทำติดต่อกันเป็นเวลาถึง 65 ปีนั้น ส่วนใหญ่เป็นภาษาละติน และไม่มีภาพประกอบ จึงใช้กันในกลุ่มผู้เชี่ยวชาญและผู้รู้ภาษาละตินเท่านั้น

ในช่วงกลางศตวรรษที่ 19 นักวิทยาศาสตร์ที่มีผลงานมีค่ามากท่านหนึ่ง คือ WILLIAM HENRY HARVEY ท่านนี้ได้เดินทางไปเก็บสาหร่ายจากที่ต่าง ๆ ทั่วโลก อาทิเช่น ประเทศอังกฤษ แอฟริกาใต้ ศรีลังกา ออสเตรเลีย โพลินีเซีย และอเมริกาฝั่งแอตแลนติก ผลงานทางอนุกรมวิธานที่ปรากฏออกมา ถูกต้องกับความเป็นจริงในธรรมชาติมาก เพราะได้ศึกษาจากตัวอย่างที่ขึ้นอยู่ในธรรมชาติโดยตรง จึงมีรายละเอียดที่สมบูรณ์

พร้อมทั้งวาดภาพประกอบที่เป็นสี อีกท่านหนึ่งที่เป็นนักวาดภาพ ได้แก่ นักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมัน ชื่อ FRIEDRICH TRAUGOTT KUTZING ท่านผู้นี้ได้เริ่มงานตั้งแต่ปี ค.ศ. 1833 โดยวาดภาพสาหร่ายทุกชนิดที่ได้มาจากทั่วโลก รวมทั้งสิ้นถึง 7,000 ชนิด และจัดพิมพ์ไว้ใน “Tabulae Phycologicae” รวม 20 เล่ม (volume)

หลังจากปี ค.ศ. 1875 จนถึงศตวรรษที่ 19 งานส่วนใหญ่ยังเป็นงานทางด้านอนุกรมวิธาน โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวยุโรป ผู้ที่มีผลงานควรแก่การยกย่อง ได้แก่ GIOVANI BATTISTA DE TONI ได้ศึกษาสาหร่ายจากทั่วโลก และเขียนไว้ใน “Sylloge Agarum” โดยเริ่มงานตั้งแต่ปี ค.ศ. 1889 และใช้เวลาถึง 35 ปีจึงเขียนจบ หนังสือชุดนี้นับว่าเป็นเอกสารอ้างอิงที่มีค่าอย่างยิ่งสำหรับนักอนุกรมวิธาน และยังคงใช้กันมาจนถึงปัจจุบัน

ระหว่างปี ค.ศ. 1900 – 1930 มีนักวิทยาศาสตร์ศึกษาเรื่องราวของสาหร่ายกันมากขึ้น การศึกษามีได้เฉพาะสาหร่ายของประเทศในยุโรปเท่านั้น แต่ได้ไปศึกษาอยู่ที่ต่าง ๆ ทั่วโลก เป็นต้นว่า อเมริกาเหนือ หมู่เกาะอินเดียตะวันตก เปรู มหาสมุทรอินเดีย ญี่ปุ่น และทวีปแอนตาร์กติกา

สำหรับผลงานด้านสาหร่ายทะเลในประเทศอเมริกานั้น เริ่มขึ้นเมื่อกลางศตวรรษที่ 19 โดย HARVEY ซึ่งได้รับเชิญให้มาจากยุโรป เพื่อดำเนินการศึกษาสาหร่ายทะเลของอเมริกาที่ Smithsonian Institution ผลงานของ HARVEY ที่ปรากฏออกมา มีภาพสีที่เขียนด้วยมือประกอบอยู่ด้วย ผลงานนี้กระตุ้นให้มีผู้สนใจศึกษาสาหร่ายทะเลของอเมริกามากขึ้น ต่อมาตอนปลายศตวรรษที่ 19 WILLIAM GIBBS FARLOW แห่งมหาวิทยาลัยฮาร์วาร์ด เป็นผู้บุกเบิกงานด้านสาหร่าย โดยศึกษาตัวอย่างที่ได้จากคิวบา และอเมริกา นับว่าเป็นนักพฤกษศาสตร์ชาวอเมริกันคนแรกที่ศึกษาทางด้านนี้ และยังเป็นผู้จัดตั้ง herbarium ขึ้นที่ฮาร์วาร์ด ซึ่งต่อมาตั้งชื่อว่า “Farlow Herbarium and Library” ที่มีชื่อเสียงมากแห่งหนึ่งของโลก

ผลงานต่อมาเป็นผลงานของ FRANK S. COLLIN ซึ่งศึกษาสาหร่ายทางฝั่งตะวันออกของอเมริกา (ด้านมหาสมุทรแอตแลนติก) และ WILLIAM ALBERT SETCHELL ศึกษาทางฝั่งตะวันตก (ด้านมหาสมุทรแปซิฟิก). ติดตามด้วยผลงานของ WILLIAM RANDOLPH TAYLOR, GEORGE HOLLENBERG, GILBERT MORGAN SMITH, FELIX E. FRITSCH, MAXWELL DOTY, GERALD W. PRESCOTT, ELMER YALE DAWSON, GEORGE F. PAPENFUSS, ฯลฯ

ช่วงกลางของศตวรรษที่ 20 จนถึงปัจจุบัน มีนักวิทยาศาสตร์ที่ศึกษาเกี่ยวกับสาหร่ายเกิดขึ้นมากมายทั่วโลก การศึกษามีได้มีทางด้านอนุกรมวิธานเท่านั้น แต่ยังครอบคลุมหลายสาขา ทั้งนิเวศวิทยา สรีรวิทยา ชีววิทยา ชีวเคมี รวมทั้งการเพาะเลี้ยง อย่างไรก็ตามงานอนุกรมวิธานยังถือเป็นรากฐาน และเป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องศึกษากันต่อไป

1.3 ความสำคัญของสาหร่ายต่อระบบนิเวศ

สาหร่ายเป็นผู้ผลิต(producer) ของระบบนิเวศในน้ำ ความสามารถในการเจริญเติบโต (growth) ของสาหร่ายแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันและเกี่ยวข้องกับปัจจัยทางกายภาพหลายประการ ที่สำคัญคือ แสง รูปแบบและปริมาณสารประกอบคาร์บอน และสารอาหารอื่น ๆ ในน้ำ ในธรรมชาติซึ่งมีสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา จะพบการเจริญแบบแข่งขันของสาหร่ายชนิดต่าง ๆ เนื่องจากสาหร่ายแต่ละชนิดจะ

มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญแตกต่างกัน และยังมีปัจจัยที่ควบคุมปริมาณของสาหร่ายคือแพลงก์ตอนสัตว์ (zooplankton) ที่กินจุลสาหร่ายเป็นอาหาร จึงมักพบการลดจำนวนของจุลสาหร่าย (แพลงก์ตอนพืช) เมื่อแพลงก์ตอนสัตว์มีปริมาณมากขึ้น ซึ่งแพลงก์ตอนสัตว์เหล่านี้ก็เป็นอาหารของสัตว์น้ำอื่น ๆ อีกทอดหนึ่ง แต่ความสำคัญของสาหร่ายต่อระบบนิเวศไม่ได้มีแต่เพียงการเป็นผู้ผลิตที่จะถ่ายทอดพลังงานต่อไปในห่วงโซ่อาหาร แต่เมื่อสาหร่ายตายลงมวลชีวภาพของสาหร่ายก็จะเข้าสู่วัฏจักรการย่อยสลายโดยแบคทีเรียและจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่มีในน้ำ และเช่นกัน หากในแหล่งน้ำมีการเจริญเพิ่มจำนวนของสาหร่ายอย่างรวดเร็ว เมื่อสาหร่ายตายลงก็จะเกิดผลกระทบต่องานน้ำนั้น ๆ ได้ นอกจากนี้มหาสาหร่ายยังมีความสำคัญต่อระบบนิเวศคือบริเวณที่มีสาหร่ายขนาดใหญ่อยู่รวมกันมาก ๆ ก็จะเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำอีกด้วย

ตามปกติการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายที่เจริญอยู่ในน้ำเป็นการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในแหล่งน้ำ เพราะถึงแม้ว่าสาหร่ายจะมีการหายใจระดับเซลล์ที่ต้องการบริโภคออกซิเจนเกิดขึ้นพร้อมกันกับการสังเคราะห์แสง แต่ปริมาณออกซิเจนที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากกระบวนการสังเคราะห์แสงจะมีมากกว่าออกซิเจนที่สาหร่ายใช้ในการหายใจ อย่างไรก็ตามในแหล่งน้ำที่มีความหนาแน่นของสาหร่ายมาก ๆ สิ่งนี้จะกลับกลายเป็นปัญหาเพราะในเวลากลางคืนเป็นเวลาที่สาหร่ายไม่สังเคราะห์แสงแต่สาหร่ายที่มีความหนาแน่นมาก ๆ จะบริโภคออกซิเจนจนทำให้ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำลดต่ำลงจนเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำได้ เหตุการณ์ปลาทะเลตายจำนวนมากบริเวณชายฝั่งหลายครั้ง เช่นที่พบบ่อยบริเวณอำเภอศรีราชา ก็มีความเป็นไปได้ว่าสาเหตุมาจากการบลูม (bloom) ซึ่งก็คือการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วของแพลงก์ตอนพืชในทะเลทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำลดลงจนปลาที่อยู่ในน้ำไม่สามารถอยู่รอดได้

นอกจากนี้ หากการบลูมของแพลงก์ตอนพืชเกิดขึ้นจากแพลงก์ตอนพืชที่เป็นพิษ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มไดโนแฟลกเจลเลตในทะเล และกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดในน้ำจืด จะทำให้เกิดปัญหาต่อสภาพแวดล้อมและสุขภาพของมนุษย์ได้ ตัวอย่างเช่น ปัญหาพิษอัมพาตจากหอย (Paralytic Shellfish Poisoning, PSP) เกิดจากการที่หอยทะเลกรองกินแพลงก์ตอนที่เป็นพิษเข้าไป ทำให้เกิดการสะสมของพิษในเนื้อหอย เมื่อมีผู้นำหอยมาบริโภคจะได้รับพิษนั้น ถ้าหากมีความรุนแรงมากก็อาจทำให้เสียชีวิตได้ ส่วนปัญหาการบลูมของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เป็นพิษในแหล่งน้ำจืดก็จะมีผลกระทบต่อการประมง ปศุสัตว์ และการใช้น้ำเพื่อการอุปโภคบริโภค โดยทั่วไปแล้วได้มีผู้ศึกษาชนิดของแพลงก์ตอนและผลของพิษชนิดต่าง ๆ เป็นจำนวนมาก แต่สำหรับปัจจัยที่จะใช้ในการคาดการณ์การบลูมของสาหร่ายพิษ ก่อนที่จะเกิดเหตุการณ์ขึ้นนั้นยังเป็นสิ่งที่ยากที่จะเข้าใจ ตลอดจนวิธีการแก้ไขเมื่อเกิดการบลูมของสาหร่ายพิษในบริเวณกว้างนั้นยังไม่มีวิธีใดที่ใช้ได้ดี

บทที่ 2

ตำแหน่งของสาหร่ายในอาณาจักรสิ่งมีชีวิตและการจัดหมวดหมู่

2.1 ตำแหน่งสาหร่ายในอาณาจักรพืชและอาณาจักรสิ่งมีชีวิต

Smith (1951) ได้รวบรวมไว้ใน “The Classification of Algae” ดังนี้

ในปี ค.ศ. 1754 CARL LINNAEUS ได้นำคำว่า “algae” มาใช้เรียกกลุ่มของพืชชั้นต่ำกลุ่มหนึ่ง และจัดไว้ในอันดับ (Order) Algae. ต่อมาปี ค.ศ. 1978 ANTONIE DE JUSSIEU นักพฤกษศาสตร์ชาวฝรั่งเศส ได้จำแนกพืชออกเป็น 3 ดิวิชันย่อย (subdivision) ได้แก่

1. Subdivision Acotyledon หมายถึง พืชที่ไม่มีใบเลี้ยง
2. Subdivision Monocotyledon หมายถึง พืชที่มีใบเลี้ยงเดี่ยว
3. Subdivision Dicotyledon หมายถึง พืชที่มีใบเลี้ยงคู่

สำหรับสาหร่ายถูกจัดไว้ใน Acotyledon ใน Order Algae โดยระบุลักษณะของพืชในอันดับนี้ว่า เป็นพวกที่มีขนาดใหญ่ สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

ต่อมาใน ค.ศ. 1838 F. J. A. N. UNGER ได้รวมสาหร่าย (algae), ไลเคน (lichen) และเห็ดรา (fungi) เข้าด้วยกันในดิวิชัน Thallophyta การที่ UNGER แยกเอา Thallophyta ออกจากพืชอื่น ๆ เนื่องจากพืชกลุ่มนี้ไม่มีส่วนของลำต้น และใบ แยกให้เห็นได้ชัดเจน จึงนำคำว่า “thallus” ซึ่ง LINNAEUS เคยใช้เรียกต้นของสาหร่ายมาตั้งเป็นชื่อดิวิชัน ต่อมาเกิดมีปัญหามาเนื่องจากสาหร่ายสีน้ำตาลที่มีขนาดใหญ่จำพวกเคลป์ (kelp) มีส่วนที่คล้ายลำต้น และใบของพืชชั้นสูง ทำให้เกิดการเข้าใจผิดและสับสน จึงได้นำลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เข้ามามีส่วนเกี่ยวข้องในการจัดหมวดหมู่ คือดิวิชัน Thallophyta นั้น อวัยวะสืบพันธุ์ส่วนใหญ่จะมีเพียง 1 เซลล์ หรือถ้ามีหลายเซลล์ ทุกเซลล์สามารถสืบพันธุ์ได้ ลักษณะอีกประการหนึ่งที่ทำให้พืชในดิวิชันนี้แตกต่างจากพืชในดิวิชันอื่น ๆ คือ ไซโกต (zygote) ซึ่งยังไม่มีการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอ (embryo)

ปี ค.ศ. 1883 นักพฤกษศาสตร์ชาวเยอรมันชื่อ AUGUST WILHELM EICHLER ได้จัดหมวดหมู่ของพืชเป็น Cryptogamae หมายถึงพืชที่ไม่เห็นอวัยวะสืบพันธุ์ และ Phanerogamae ได้แก่พืชที่อวัยวะสืบพันธุ์สามารถมองเห็นได้

ในพวก Cryptogamae แบ่งออกเป็น 3 ดิวิชัน ได้แก่

1. Division Thallophyta
2. Division Bryophyta
3. Division Pteridophyta

ส่วน Phanerogamae แบ่งออกเป็น 2 ดิวิชัน ได้แก่

1. Division Gymnospermae
2. Division Angiospermae

ต่อมาได้รวม 2 ดิวิชันนี้เข้าด้วยกัน เป็น Division Spermatophyta

ในปัจจุบัน COPELAND (อ้างโดยจูริตน์ และคณะ, 2523) ได้จัดจำแนกสิ่งมีชีวิตออกเป็น 4 อาณาจักร (Kingdom) ได้แก่ โมเนอรา (Monera), โปรติสตา (Protista), เมตาไฟตา (Metaphyta) และเมตาซัว (Metazoa) แต่ละอาณาจักรมีลักษณะดังต่อไปนี้

1. อาณาจักรโมเนอรา ได้แก่ สิ่งมีชีวิตจำพวกโปรแคริโอต (prokaryote) ที่มีนิวเคลียส (nucleus) แบบขั้นต้น ยังไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสที่เห็นได้ชัดเจน การแบ่งนิวเคลียสเป็นไปอย่างง่าย ๆ และการจัดองค์ประกอบของยีน (gene) ก็ไม่ชัดเจนเหมือนกับในโครโมโซม (chromosome) ของสิ่งมีชีวิตชั้นสูง สิ่งมีชีวิตในอาณาจักรนี้ได้แก่ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) และแบคทีเรีย (bacteria)

2. อาณาจักรโปรติสตา ได้แก่ สิ่งมีชีวิตพวกยูแคริโอต (eukaryote) ซึ่งมีนิวเคลียสที่สมบูรณ์ เยื่อหุ้มนิวเคลียสและโครโมโซมเห็นได้ชัดเจน และมีการแบ่งตัวแบบไมโอซิส (meiosis) สิ่งมีชีวิตในอาณาจักรนี้ส่วนมากเป็นเซลล์เดี่ยวที่สามารถทำหน้าที่ของสิ่งมีชีวิตได้ครบถ้วนสมบูรณ์ บางชนิดอาจมีหลายเซลล์ แต่ทุกเซลล์ยังมิได้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเนื้อเยื่อ หรือเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่เฉพาะอย่าง สิ่งมีชีวิตในอาณาจักรนี้ได้แก่ สาหร่าย (algae), เห็ดรา (fungi), ราเมือก (slime mold) และโปรโตซัว (protozoa)

3. อาณาจักรเมตาไฟตา ได้แก่ สิ่งมีชีวิตพวกยูแคริโอต (eukaryote) ซึ่งประกอบด้วยหลายเซลล์ บางเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะอย่างแบบถาวร สิ่งมีชีวิตพวกนี้มีคลอโรฟิลล์ จึงสามารถสังเคราะห์อาหารเองได้ ได้แก่พืชทุกชนิด เช่น มอสส์ ลิเวอร์เวิร์ท เฟิร์น ปรง สน และไม้ดอกทุกชนิด

4. อาณาจักรเมตาซัว ได้แก่ สิ่งมีชีวิตพวกยูแคริโอต ซึ่งมีหลายเซลล์ แต่ละเซลล์มีหน้าที่เฉพาะอย่างแบบถาวร สิ่งมีชีวิตในอาณาจักรนี้ไม่มีคลอโรฟิลล์ จึงไม่สามารถสังเคราะห์อาหารเองได้ มีทั้งสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และมีกระดูกสันหลังทุกชนิด

ดังนั้นจึงเห็นได้ว่า สาหร่ายส่วนใหญ่จัดอยู่ในอาณาจักรโปรติสตา และมีบางส่วน ได้แก่ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ถูกจัดไว้ในอาณาจักรโมเนอรา

2.2 การจัดหมวดหมู่ของสาหร่าย

ในปี ค.ศ. 1754 LINNAEUS ได้ตั้งชื่อพืชในกลุ่ม "algae" ไว้รวม 14 สกุล ต่อมาภายหลังพบว่าทั้ง 14 สกุลนี้ เป็นสาหร่ายจริง ๆ ตามความหมายในปัจจุบันเพียง 4 สกุลเท่านั้น คือ Conferva, Ulva, Fucus และ Chara (Papenfuss, 1955 อ้างโดย Bold และ Wynne, 1978)

ปี ค.ศ. 1838 HARVEY (อ้างโดย Smith, 1951) ได้จัดจำแนกสาหร่ายออกเป็น 3 คลาสย่อย (Subclass) ดังนี้

1. Subclass Chlorospermeae ได้แก่ สาหร่ายสีเขียว (green algae) และสาหร่ายสีเขียวกามน้ำเงิน
2. Subclass Melanospermeae ได้แก่ สาหร่ายสีน้ำตาล (brown algae)
3. Subclass Rhodospermeae ได้แก่ สาหร่ายสีแดง (red algae)

ต่อมาได้มีการเปลี่ยนแปลงเป็น Class Chlorophyceae โดย KUTZING ใน ค.ศ. 1845 : Class Phaeophyceae โดย KJELLMAN ใน ค.ศ. 1891 : และ Class Rhodophyceae โดย RUPRECHT ใน ค.ศ. 1855 ในปี ค.ศ. 1860 STIZENBERGER ได้แยกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินออกจาก Class Chlorophyceae มาตั้งใหม่ใช้ชื่อว่า Class Myxophyceae, และใน ค.ศ. 1874 SACHS ได้เปลี่ยนชื่อใหม่เป็น Class Cyanophyceae (Smith, 1951)

กระทั่ง ปี ค.ศ. 1933 G.M. SMITH เขียนหนังสือ ชื่อ “Fresh-water Algae of the United states” ได้รวมเอาสาหร่ายกับเห็ดราเข้าไว้ด้วยกันใน Division Thallophyta, และจัดจำแนกสาหร่ายออกเป็น 11 คลาส ตามชนิดและตำแหน่งของรงควัตถุ (pigment), อาหารสะสม และเซลล์สืบพันธุ์ ดังนี้

1. Class Chlorophyceae
2. Class Euglenophyceae
3. Class Xanthophyceae
4. Class Chrysophyceae
5. Class Bacillariophyceae
6. Class Phaeophyceae
7. Class Dinophyceae
8. Class Myxophyceae
9. Class Rhodophyceae
10. Class Cryptophyceae
11. Class Chloromonadales

ต่อมาในปี ค.ศ. 1950 SMITH ได้แก้ไขปรับปรุงใหม่ เหลือเพียง 7 กลุ่ม และยกระดับขึ้นเป็น ดิวิชัน ดังนี้

1. Division Chlorophyta
2. Division Euglenophyta
3. Division Chrysophyta
4. Division Phaeophyta
5. Division Pyrrophyta หรือ Pyrrophyta
6. Division Cyanophyta
7. Division Rhodophyta

เมื่อปี ค.ศ. 1946 PAPENFUSS ได้ให้ความเห็นว่า ถ้านำคำ “Chlorophyta” ซึ่งแปลว่า “พืชสีเขียว” มาใช้กับสาหร่ายสีเขียวแล้ว จะเป็นการตัดโอกาสที่จะนำคำนี้ไปใช้กับพืชอื่น ๆ ที่มีรงควัตถุ และอาหารสะสมเช่นเดียวกับสาหร่ายสีเขียว จึงแนะนำให้เดิมคำว่า “phyco” ที่แปลว่า “สาหร่าย” เข้าไปเป็น “Chlorophycophyta” เช่นเดียวกัน ในดิวิชันอื่น ๆ ก็ให้เดิมเข้าไป เพื่อให้มีความหมายเฉพาะกับสาหร่ายเท่านั้น. ปรากฏว่าไม่เป็นที่ยอมรับใช้กัน เพราะเมื่อเดิมเข้าไปแล้วทำให้ชื่อยาวและรุงรัง หลายท่านมีความเห็นว่า

ถึงแม้จะมีคำว่า “phyco” อยู่ด้วย ชื่อที่ใช้เรียกดิวิชันต่าง ๆ ของสาหร่ายที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน ก็เป็นที่ทราบกันดีว่าหมายถึง สาหร่ายอยู่แล้ว (Bold และ Wynne, 1978)

จะเห็นได้ว่า การจำแนกหมวดหมู่ของสาหร่ายในสมัยก่อน ใช้รูปร่างลักษณะภายนอกที่เหมือนกัน หรือคล้ายคลึงกัน จัดรวมไว้ในกลุ่มเดียวกัน นอกจากนี้ ยังดูตามสีที่ปรากฏออกมาให้เห็น ยังแบ่งได้เป็น สาหร่ายสีเขียว สีน้ำตาล และสีแดง แต่ต่อมาพบว่า การใช้สีในการแบ่งนั้นไม่แน่นอน สาหร่ายบางชนิดเห็นสีได้ไม่ชัดเจน เป็นต้นว่า สาหร่ายสีแดงอาจไม่เห็นเป็นสีแดง เนื่องจากรงควัตถุสีแดงถูกทำลายไป หรือถูกรงควัตถุอื่นคลุมหรือบังไว้

ในปัจจุบัน สาหร่ายถูกจัดไว้ใน 2 อาณาจักรด้วยกัน คือ อาณาจักรโมเนรา ได้แก่ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน อยู่ใน Division Cyanophyta ส่วนสาหร่ายอื่น ๆ นั้น จัดไว้ในอาณาจักรโปรติสตา สำหรับจำนวนดิวิชันนั้น มีมากน้อยต่างกันตามความคิดเห็นและเหตุผลของนักวิทยาศาสตร์แต่ละท่าน ซึ่งแตกต่างกันไป อย่างไรก็ตาม ก็ยังคงยึดหลักเกณฑ์และลักษณะที่สำคัญในการจัดจำแนกหมวดหมู่ดังต่อไปนี้

1 ชนิดของรงควัตถุ

โดยตรวจสอบว่าสาหร่ายชนิดนั้น ๆ ประกอบด้วยรงควัตถุอะไรบ้าง แทนที่จะดูว่าเป็นสีอะไร สาหร่ายส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ (carotenoid) ซึ่งละลายได้ในตัวทำละลายที่เป็นสารอินทรีย์ นอกจากนี้ยังมีรงควัตถุที่ละลายได้น้ำ ได้แก่ ไฟโคบิลิน (phycobilin) หรือ ไฟโคบิลิโปรตีน (phycobiliprotein) ซึ่งจะพบในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และสาหร่ายสีแดงเท่านั้น

2 อาหารสะสม

ผลจากการสังเคราะห์แสง จะได้สารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจะสะสมไว้ในเซลล์ หรือบางครั้งไว้ในพลาสติค ในรูปของแป้ง (starch) ไขมัน (fat) หรือน้ำมัน (oil)

ในปัจจุบันพบว่า สิ่งมีชีวิตบางอย่างสามารถปล่อยอาหารสะสมที่มีอยู่มากเกินความต้องการออกจากเซลล์ มาสู่สิ่งแวดล้อมที่อาจเป็นน้ำ ดิน หรืออากาศ หรือพูดอีกนัยหนึ่ง คือใช้สิ่งแวดล้อมเป็นที่เก็บอาหารซึ่งเซลล์สามารถดึงกลับมาใช้ได้

3 การเคลื่อนไหว

สาหร่ายบางชนิดมีการเคลื่อนไหวได้ และบางชนิดไม่เคลื่อนไหว แต่ก็มีบางระยะในวัฏจักรชีวิต เช่น ระยะสืบพันธุ์จะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่เคลื่อนไหวได้ เช่น สาหร่ายสีเขียว และสาหร่ายสีน้ำตาล เซลล์ที่เคลื่อนไหวได้นั้น ส่วนมากมักมีหนวด (flagellum) ดังนั้น จำนวนหนวดลักษณะของหนวด รวมทั้งตำแหน่งที่หนวดฝังตัวอยู่ จึงเป็นสิ่งสำคัญในการจำแนกหมวดหมู่ของสาหร่ายด้วย

4. องค์ประกอบของผนังเซลล์

ถึงแม้ว่าสาหร่ายส่วนใหญ่จะมีผนังเซลล์ แต่ในบางครั้งพบว่า เซลล์ปกติของสาหร่ายบางสกุล และเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายบางชนิดไม่มีผนังเซลล์ องค์ประกอบของผนังเซลล์ส่วนใหญ่เป็นพวกเซลลูโลส (cellulose), ไซแลน (xylan), แมนแนน (mannan), ซัลเฟตเต็ดโพลีแซ็กคาไรด์ (Sulphated polysaccharied), กรดแอลจีนิค (alginic acid), โปรตีน, ซิลิกอนไดออกไซด์ (silicon dioxide) และหินปูน, ความจริงแล้วผนังเซลล์ของสาหร่าย มิได้ประกอบด้วยอย่างใดอย่างหนึ่งเพียงอย่างเดียวเท่านั้น แต่จะมีหลายอย่างประกอบกัน

การศึกษาองค์ประกอบของผนังเซลล์มีได้ทำได้ง่าย ๆ ต้องการความชำนาญ และความละเอียดอ่อนในการวิเคราะห์ทางเคมี ร่วมกับการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

5 รายละเอียดเฉพาะอย่าง

จากการตรวจสอบสาหร่ายจำนวนหนึ่งแล้ว พบว่า สาหร่ายบางกลุ่มสามารถแยกหมวดหมู่ได้โดยอาศัยรูปร่างลักษณะ แต่ยังมีสาหร่ายอีกหลายชนิดที่จำเป็นต้องศึกษารายละเอียดเฉพาะอย่าง เป็นต้นว่า การจัดเรียงของไทลาคอยด์ในพลาสติด การแบ่งเซลล์ และการแบ่งนิวเคลียส ลักษณะเหล่านี้จะช่วยให้การจำแนกชนิดชัดเจนและแน่นอนขึ้น

ลักษณะสำคัญทั้ง 5 ประการนี้ ลักษณะใดจะสะดวก หรือง่ายต่อการศึกษานั้น ขึ้นอยู่กับสาหร่ายแต่ละกลุ่ม

ในที่นี้จะแบ่งตาม Bold และ Wynne (1978) ซึ่งจำแนกสาหร่ายที่มีอยู่ทั้งหมดออกเป็น 9 ดิวิชัน ดังนี้

1. Division Cyanophycophyta (blue-green algae)
2. Division Chlorophycophyta (green algae)
3. Division Charophycophyta (stoneworts)
4. Division Euglenophycophyta (euglenoids)
5. Division Phaeophycophyta (brown algae)
6. Division Chrysophycophyta (golden และ yellow- green algae รวมทั้ง diatoms)
7. Division Pyrrhophycophyta (dinoflagellates)
8. Division Cryptophycophyta (cryptomonads)
9. Division Rhodophycophyta (red algae)

สำหรับชื่อดิวิชันที่ใช้ในหนังสือเล่มนี้ จะตัดคำว่า “phyco” ออกไป ดังนั้น 9 ดิวิชันที่จะกล่าวถึง ได้แก่

1. Division Cyanophyta
2. Division Chlorophyta
3. Division Charophyta
4. Division Euglenophyta
5. Division Phaeophyta
6. Division Chrysophyta
7. Division Pyrrhophyta
8. Division Cryptophyta
9. Division Rhodophyta

บทที่ 3

ลักษณะทางชีววิทยาของสาหร่าย

3.1 ขนาดและรูปร่าง

มีต่าง ๆ กัน จากเซลล์เดี่ยวซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ไมครอนไปจนถึงพวก sea weed ที่มีขนาดใหญ่หรือยาวเป็นร้อยฟุตก็มี เช่น *Macrocystis pyrifera* (giant kelp) ซึ่งมีรายงานว่าเป็นสาหร่ายที่ยาวที่สุดในโลก โดยยาวถึง 700 ฟุต

เนื่องจากสาหร่ายมีเป็นจำนวนมาก ขนาดก็มีต่าง ๆ กัน ดังนี้

1. เซลล์เดี่ยว เคลื่อนที่ได้ (motile unicellular) และเซลล์เดี่ยวเคลื่อนที่ไม่ได้ (non motile unicellular)
2. หลายเซลล์อยู่รวมกันเป็นโคโลนี (colony) ซึ่งมีทั้งโคโลนีที่เคลื่อนที่ได้และโคโลนีที่เคลื่อนที่ไม่ได้
3. เป็นสายเรียบ ซึ่งมีทั้งแตกกิ่งก้านและไม่แตกกิ่งก้าน
4. เซลล์ซ้อนกันหลายชั้น มีทึลล์ลักษณะเป็นแผ่น (bushy plants)
5. แตกกิ่งเป็นพุ่ม (bushy plants)
6. มี sheath หุ้ม
7. เป็นสายยาว ซึ่งตลอดสายเซลล์นั้นประกอบด้วยเซลล์เพียงเซลล์เดียวมีลักษณะเป็นคล้ายท่อตลอดสายเซลล์ (coenocytic filament)

3.2 ที่อยู่อาศัย

โดยทั่ว ๆ ไปแล้วสาหร่ายชอบอยู่ในน้ำซึ่งต้องการสภาพสารเคมีและ physical condition ต่าง ๆ ตามแต่ชนิดของสาหร่าย สาหร่ายบางชนิดอยู่ในน้ำหรือบนผิวน้ำ บางชนิดอยู่ในดิน บางชนิดอยู่ในทรายตามชายหาด บางชนิดเจริญเติบโตบนก้อนหินขึ้น ๆ ท่อนไม้หรือดินสาหร่ายหลายชนิดสามารถเจริญเติบโตอยู่เฉพาะในน้ำเค็ม น้ำกร่อย บางชนิดก็อยู่ได้ทั้งน้ำจืดและน้ำเค็ม พวกที่อยู่ในบ่อน้ำร้อนก็มี ส่วนมากเป็นพวกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน บางพวกก็เจริญเติบโตอยู่บนหิมะ เช่น *Chlamydomonas* sp. ซึ่งจะทำให้หิมะเป็นสีแดง ส่วน *Raphidonema* sp. ทำให้หิมะเป็นสีเขียว ส่วนใหญ่จะเป็นพวกสาหร่ายสีเขียว

สาหร่ายที่อยู่ในน้ำจืด (fresh water algae) และสาหร่ายที่อยู่ในน้ำทะเลหรือน้ำเค็ม (marine algae) อาจจะมีชีวิตความเป็นอยู่แบบ epiphyte ก็ได้ บางชนิดก็มีชีวิตเป็น endophyte คืออยู่ภายในหรือระหว่างเซลล์ของ host เช่น *Anabaena* ที่อยู่ในช่องว่างของใบของแหวนแดง หรือในเซลล์ของพืชพวก Cycad เป็นต้น ที่เป็น parasite ก็มี เช่น *Cephaleuros* ที่อยู่ในใบของต้นชา ทำให้ต้นชาเป็นโรค บางชนิดก็เป็น epizotic คืออยู่บนตัวสัตว์หรือเป็น endozoic อยู่ภายในตัวสัตว์ เช่น *Chlorella* หลายชนิดที่ขึ้นอยู่บนฟองน้ำและ *Hydra* *Characium*

ขึ้นอยู่บนหนวดของตัวอ่อนของยุง (mosquito larvae) Chlorella บางชนิดอยู่ได้แก่ลึดปลา Basicladia ขึ้นอยู่บนกระดองเต่า สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดเจริญเติบโตอยู่ในทางเดินอาหารของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สาหร่ายบางชนิดอยู่ตามบริเวณน้ำที่ไหลอยู่เสมอ เช่น น้ำตก พวกสาหร่ายบางชนิดก็มีชีวิตอยู่ร่วมกับราก่อให้เกิดเป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่เรียกว่า ไลเคน (lichen)

3.3 การแพร่กระจายของสาหร่ายในธรรมชาติ

สาหร่ายจัดว่าเป็นพืชที่ปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี จึงสามารถพบสาหร่ายได้ทั่วไป แต่ส่วนมากเจริญได้ดีในน้ำ สาหร่ายแต่ละชนิดมีการแพร่กระจายในธรรมชาติได้ไม่เท่ากัน เพราะสาหร่ายแต่ละชนิดจะเจริญได้ดีในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมเฉพาะตัวและมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดีไม่เท่ากัน สาหร่ายชนิดใดที่ปรับตัวได้ดีจึงสามารถพบได้ในแทบทุกแห่ง แต่บางชนิดจะพบเฉพาะในบางแห่งหรือบางฤดูกาลที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสมเท่านั้น

ถ้าจัดแบ่งสาหร่ายตามที่อยู่อาศัยในธรรมชาติ จะได้ดังนี้

1. สาหร่ายที่เจริญอยู่ในน้ำ (Hydrophyte) แบ่งย่อยเป็น
 - 1.1 Benthophyte เจริญบนพื้นท้องน้ำ หรือเรียกว่า เบนโทส (Benthose)
 - 1.2 Epactiphyte เจริญอยู่ริมตลิ่ง
 - 1.3 Thermophyte เจริญในแหล่งน้ำที่มีอุณหภูมิสูง เช่น น้ำพุร้อน
 - 1.4 Planktophyte ลอยอยู่ในน้ำ
 - 1.5 Halophyte เจริญในน้ำเค็ม
 - 1.6 Epiphyte เจริญบนพืชน้ำ หรือสาหร่ายชนิดอื่น ๆ
 - 1.7 Epizooiphyte เจริญบนสัตว์น้ำ เช่น เปลือกหอย กระดองเต่า
2. สาหร่ายที่เจริญอยู่บนบก (Edaphophyte) แบ่งย่อยเป็น
 - 2.1 Saphophyte เจริญอยู่บนผิวดิน
 - 2.2 Cryptophyte เจริญอยู่ในดิน
3. สาหร่ายที่เจริญอยู่ในอากาศ (Aerophyte) แบ่งย่อยเป็น
 - 3.1 Epiphylliphyte เจริญบนใบไม้
 - 3.2 Epiphloephyte เจริญบนเปลือกไม้
 - 3.3 Epizooophyte เจริญบนตัวสัตว์ เช่น แมลง
 - 3.4 Lithophyte เจริญบนก้อนหิน กำแพง
4. สาหร่ายที่เจริญบนน้ำแข็งหรือหิมะ (Cryophyte)
5. สาหร่ายที่เจริญอยู่ภายในพืช (Endophyte) เช่น ในแห่นาง (Azolla) , รากปรง (cycas root)
6. สาหร่ายที่เจริญร่วมกับพืชอื่นแบบพึ่งพาอาศัยกัน (Symbiosis) เช่น ไลเคน (Lichen)
7. สาหร่ายที่เจริญอยู่ภายในตัวสัตว์ (Endozoophyte) เช่น ในตัวไฮดรา (Hydra)

8. สาหร่ายที่ดำรงชีวิตแบบพาราไซต์ (Parasite) เช่น ทำให้เกิดโรคใบสนิม (Red rust) แก่มะม่วง ขากาแฟ (Gupta, 1980:16-19), Smith, 1950:17-23)

3.4 โครงสร้างของเซลล์ของสาหร่าย

เซลล์ของสาหร่ายก็เช่นเดียวกับพืชทั่ว ๆ ไปคือ ประกอบด้วยผนังเซลล์และโปรโตพลาสซึม (protoplasm)

ผนังเซลล์ เซลล์ของสาหร่ายมีผนังเซลล์ 1 ชั้น แต่บางชนิดอาจจะมีถึง 3 ชั้นได้ ชั้นนอกสุดเป็นสารพวกเพคติน (pectin) ชั้นในเป็นสารพวก cellulose ในกรณีที่สาหร่ายนั้นมีผนังเซลล์ถึง 3 ชั้น ชั้นนอกสุดที่อยู่ถัดจากเพคตินออกมาจะเป็นชั้นของ mucilaginous pectose layer สาหร่ายบางชนิดผนังเซลล์ชั้นนอกจะมีหิโนปมาพอกเช่น Siphonales และ Charales เป็นต้น ผนังเซลล์จะทำหน้าที่ห่อหุ้มสิ่งที่อยู่ภายในเซลล์ แต่ก็มีสาหร่ายบางชนิดที่ไม่มีผนังเซลล์ห่อหุ้ม เช่น Euglena, Dinoflagellate เป็นต้น โดยส่วนนอกของไซโตพลาสซึมจะเปลี่ยนเป็น periferal หรือ pellicle ทำหน้าที่ห่อหุ้มไซโตพลาสซึมนั้น และสามารถเปลี่ยนแปลงรูปได้ง่าย

โปรโตพลาสซึม เป็นของเหลวชั้น ๆ หนืด ๆ โปร่งแสงอยู่ภายในผนังเซลล์ โดยมีเยื่อหุ้มเซลล์ (cytoplasmic หรือ plasma membrane) เป็นเยื่อบาง ๆ หุ้มโปรโตพลาสซึมไว้ เยื่อหุ้มเซลล์นี้มีส่วนประกอบเหมือนเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์พืชทั่ว ๆ ไป โปรโตพลาสซึมประกอบด้วยนิวเคลียส และไซโตรพลาสซึม

นิวเคลียส ยกเว้นนิวเคลียสของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน นิวเคลียสของสาหร่ายทั้งหมดเป็นแบบ eukaryotic nucleus โดยจะมีเยื่อหุ้มนิวเคลียส และ nucleolus เช่นเดียวกับพืชชั้นสูง โครโมโซมมีการแบ่งแบบ mitosis โครโมโซมมีขนาดเล็กและมีจำนวนมาก ประมาณจาก 5-48 หรือมากกว่า อาจเกิด polyploidy ขึ้นได้ในสภาพที่ผิดปกติ ในการแบ่งเซลล์ของสาหร่ายบางชนิดอาจจะมีการแบ่งนิวเคลียสเท่านั้นไม่มีการสร้างผนังเซลล์ ซึ่งได้แก่สาหร่ายที่มีทาลัสแบบ coenocytic filament การแบ่งแบบ meiosis จะมีเกิดขึ้นได้ในกรณีที่สาหร่ายนั้นสร้าง gamete สำหรับการสืบพันธุ์แบบมีเพศ

ไซโตพลาสซึม เป็นของเหลวหนืด ๆ โปร่งแสง มี organelle ต่าง ๆ ลอยอยู่ด้วยดังนี้

1. **แวคคิวโอล (vacuole)** สาหร่ายทั่วไปมีแวคคิวโอล ยกเว้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เช่นเดียวกับเซลล์พืชคือถ้าเซลล์นั้นยังอ่อนอยู่ แวคคิวโอลจะมีขนาดเล็กและมีจำนวนมาก แต่ถ้าเป็นเซลล์ที่เจริญเติบโตเต็มที่แวคคิวโอลจะมีขนาดใหญ่
2. **ไมโทคอนเดรีย (mitochondria)** มีลักษณะเป็น granule เล็ก ๆ หรือเป็นเส้นยาว มีหน้าที่เช่นเดียวกับเซลล์ของพืช
3. **golgi apparatus** จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่า มีรูปร่างเป็นถุงเล็ก ๆ organelle ชนิดนี้พบใน Pedinomonas สำหรับเซลล์ของพวก desmid พบอยู่ตามขอบของคลอโรพลาสต์ พวกสาหร่ายที่เคลื่อนที่ได้ golgi apparatus จะอยู่ใกล้ ๆ และรอบ ๆ นิวเคลียส เนื่องจากเป็นสิ่งเล็กมากและมีสาหร่ายบางชนิดเท่านั้น นัก cytologist บางคนเลยอ้างว่าไม่มี golgi apparatus ในเซลล์ของสาหร่ายเมื่อเทียบกับเซลล์สัตว์

4. **เซนโตรโซม (centrosome)** มักจะมีในเซลล์ของสาหร่ายที่เคลื่อนที่ได้ซึ่งอยู่ในไซโตรพลาสซึม มีหน้าที่เกี่ยวกับการแบ่งเซลล์

5. **รงควัตถุ (pigment)** ที่มีอยู่ในเซลล์ของสาหร่าย ได้แก่ คลอโรฟิลล์ carotenoids และ phycobilins

คลอโรฟิลล์ที่พบในเซลล์ของสาหร่ายมีอยู่หลายชนิด เช่น คลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ ซี และคลอโรฟิลล์ อี รงควัตถุพวกแคโรทีนอยด์มี 2 ชนิด คือ carotene และ xanthophyll ซึ่งมีสีเหลือง สีส้ม และสีแดง ส่วนไฟโคบิลินก็ประกอบด้วย phycoerythrin ซึ่งมีสีแดงและ phycocyanin ซึ่งมีสีน้ำเงิน สาหร่ายทุกชนิดมีคลอโรฟิลล์ เอ แต่รงควัตถุอื่น ๆ จะพบในสาหร่ายบางชนิดเท่านั้น รงควัตถุทั้งหลายที่กล่าวมานี้สามารถสังเคราะห์แสงได้ และจะรวมกันอยู่ใน plastid ที่เรียกว่า คลอโรพลาสท์ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไม่มีเม็ดคลอโรพลาสท์ แต่รงควัตถุจะอยู่ภายในโปรโตพลาสท์บริเวณรอบนอกซึ่งเรียกว่า โครโมพลาสซึม

6. **eye spot** มักจะพบในสาหร่ายที่เคลื่อนที่ได้หรือในเซลล์สืบพันธุ์ที่เคลื่อนที่ได้ ทำหน้าที่เป็นอวัยวะสำหรับรับความเข้มของแสง เพื่อนำทางในการเคลื่อนที่ของสาหร่าย ดังนั้นจึงมักพบ eye spot ทางด้านหน้าของเซลล์เสมอ

7. **flagellum** มีลักษณะเป็นเส้นใยยาวออกจากเซลล์ของสาหร่าย บางคนเรียก หนวด หรือแฉ่ เข้าใจว่า flagellum นี้ ก็คือไซโตพลาสซึมที่ยื่นยาวออกมา โดยมีเยื่อบาง ๆ มาหุ้ม ปลายด้านหนึ่งของ flagellum จะอยู่ในช่องของเยื่อหุ้มเซลล์ โครงสร้างของ flagellum ยังไม่มีใครทราบรายละเอียด ทราบแต่เพียงว่ามันกว้างไปมายืดและหดได้ตำแหน่งที่อยู่และจำนวนของ flagellum ก็ต่างกันตามแต่ชนิดของสาหร่าย สาหร่ายบางชนิดมี flagellum อยู่ทางด้านหน้า บางชนิดอยู่ทางด้านข้าง จำนวนของ flagellum อาจจะมี 1,2,3 หรือ 4 เส้นก็ได้ สาหร่ายบางชนิดมี flagellum 2 เส้น ซึ่ง flagellum แต่ละเส้นอาจยาวเท่ากันหรือไม่เท่ากันก็ได้

3.5 การสืบพันธุ์ของสาหร่าย

มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ (asexual reproduction) และการสืบพันธุ์แบบมีเพศ (sexual reproduction)

การสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ สาหร่ายสามารถสืบพันธุ์หรือแพร่พันธุ์ได้โดยไม่ต้องอาศัยเพศ จำนวนโครโมโซมก็ไม่เปลี่ยนแปลง ถ้าสภาพแวดล้อมปกติไม่เปลี่ยนแปลง เช่นไม่ร้อนจัด ไม่หนาวจัด น้ำที่สาหร่ายนั้นอาศัยอยู่ยังคงมีอยู่อย่างปกติไม่แห้ง สาหร่ายส่วนใหญ่ก็จะสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ ซึ่งมีวิธีต่าง ๆ ตามชนิดของสาหร่ายดังนี้

1. **fragmentation** วิธีการนี้จะเกิดขึ้นกับสาหร่ายที่มีรูปร่างเป็นสายโดยสายเซลล์จะขาดออกจากกันเป็นท่อน ๆ แต่ละท่อนสามารถเจริญเป็นทัลลัสใหม่ได้ เช่น Spirogyra, Mougeotia เป็นต้น
2. **โดยการแบ่งเซลล์ออกเป็น 2 เซลล์ (cell division)** มักจะเกิดกับสาหร่ายพวกเซลล์เดี่ยว เช่น Protococcus, Chlorella เป็นต้น

3. **โดยการสร้างสปอร์ (asexual spore)** สาหร่ายแต่ละชนิดจะมีสปอร์ไม่เหมือนกัน สปอร์บางชนิดเคลื่อนที่ได้เรียก zoospore ทั้งนี้เพราะมี flagellum สปอร์บางชนิดเคลื่อนที่ไม่ได้เรียก nonmotile spore สปอร์เหล่านี้จะอยู่ภายใน sporangium สาหร่ายที่มีสปอร์เคลื่อนที่ได้ เช่น Chlamydomonas, Oedogonium, Cladophora เป็นต้น ส่วนสาหร่ายที่มีสปอร์เคลื่อนที่ไม่ได้จะพบใน Chlorella, pithophora, Chlorococcum เป็นต้น
4. **โดยการสร้างโคโลนีใหม่** อยู่ภายในโคโลนีเดิม ซึ่งมีทั้งโคโลนีที่เคลื่อนที่ได้และเคลื่อนที่ไม่ได้ สาหร่ายที่สร้างโคโลนีเดิม ได้แก่ Volvox, Eudorina, Pandorina เป็นต้น สาหร่ายที่สร้างโคโลนีใหม่และเคลื่อนที่ไม่ได้ เช่น Scenedesmus เป็นต้น

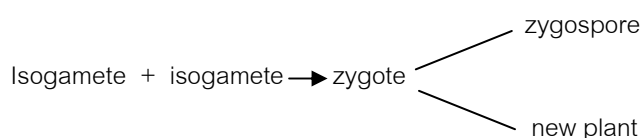
การสืบพันธุ์แบบมีเพศ มีอยู่หลายแบบด้วยกัน แต่หลักการสำคัญในการสืบพันธุ์แบบมีเพศนั้น

สาหร่ายจะสร้างเซลล์พิเศษขึ้นในทลัสส์สำหรับทำหน้าที่สืบพันธุ์โดยเฉพาะ เรียกเซลล์นี้ว่า gamete มีจำนวนโครโมโซม 1 ชุด (n) เซลล์นี้จะอยู่ภายใน gametangium เมื่อ gamete 2 เซลล์มาจับคู่และรวมตัวกันก็จะได้ zygote ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียสมีจำนวนโครโมโซม 2 ชุด (2n)



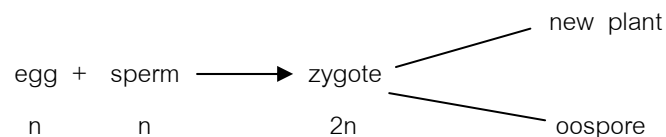
หลักการสำคัญก็มีเช่นนี้ แต่วิธีการสร้าง gamete และการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นหลังจากเกิด zygote แล้วก็มีหลายแบบตามแต่ชนิดของสาหร่ายดังนี้

1. **Isogamy หรือ Conjugation** เป็นวิธีการที่ isogamete 2 ตัวมารวมตัวกัน isogamete คือ gamete ที่มีรูปร่างที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน ขนาดเท่ากัน เมื่อ isogamete มารวมตัวกันแล้วได้ zygote นี้จะเปลี่ยนแปลงเป็นสปอร์ที่มีโครโมโซม 2 ชุดเท่า zygote ผงหนา ทนต่อความแห้งแล้งและดินฟ้าอากาศที่ไม่เหมาะสมได้ เรียกสปอร์นี้ว่า zygospore เมื่อถึงฤดูฝน มีน้ำ อุณหภูมิและแสงสว่างที่พอเหมาะ zygospore ก็จะเจริญเป็นทลัสส์ใหม่ โดยนิวเคลียสของ zygospore จะแบ่งตัวแบบไมโอซิสเสียก่อน ได้เซลล์ซึ่งมีโครโมโซมเพียงชุดเดียวและเซลล์เหล่านี้ก็เจริญเป็นทลัสส์ใหม่ดังกล่าวแล้ว ในบางกรณี zygote ก็ไม่เปลี่ยนเป็น zygospore แต่จะออกเป็นทลัสส์ใหม่เลย



2. **Heterogamy หรือ Oogamy หรือ Fertilization** คือวิธีการที่ heterogamete มารวมกัน heterogamete คือ gamete ที่รูปร่างไม่เหมือนกัน ขนาดไม่เท่ากัน ถ้า heterogamete ตัวหนึ่งมีขนาดใหญ่กว่าอีกตัวหนึ่งและเคลื่อนที่ไม่ได้เรียก egg ส่วน gamete อีกตัวหนึ่งที่มีขนาดเล็กกว่าและเคลื่อนที่ได้เรียก sperm เซลล์ของทลัสส์ของสาหร่ายในระยะก่อนสร้าง gamete จะมีนิวเคลียสที่มีโครโมโซม 2 ชุด และเมื่อจะสร้าง

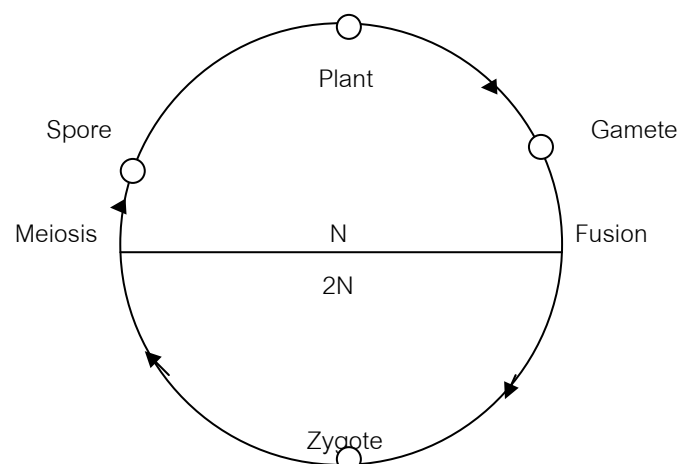
gamete ก็จะมีการแบ่งนิวเคลียสของเซลล์ที่จะทำหน้าที่เป็นเซลล์สืบพันธุ์แบบไมโอซิส เสียก่อนแล้วจึงสร้าง gamete ดังนั้นนิวเคลียสของ gamete แต่ละเซลล์จึงมีโครโมโซมเพียงชุดเดียว และเมื่อ gamete 2 เซลล์มารวมกันจึงเป็น zygote ที่มีโครโมโซม 2 ชุด ซึ่งจะเจริญไปเป็นทลัสส์ใหม่ หรือ zygote นั้นจะเปลี่ยนแปลงเป็นสปอร์ที่มีผนังหนาเรียก oospore ทนต่อความแห้งแล้งที่ไม่เหมาะสมได้เป็นเวลานาน เมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสมเมื่อใด oospore ก็จะมีชีวิตเป็นทลัสส์ใหม่ได้



gametangium เป็นอวัยวะพิเศษที่ทลัสส์ของสาหร่ายสร้างขึ้นมาหรือเปลี่ยนแปลงมาจากเซลล์ธรรมดา (vegetative) เพื่อให้เป็นที่กำเนิดของ gamete ถ้าเป็น male gametangium เรียกว่า antheridium มีหน้าที่ผลิต sperm หรือ antherozoid ถ้าเป็น female gametangium เรียกว่า oogonium ทำหน้าที่ผลิต female sex cell หรือ egg

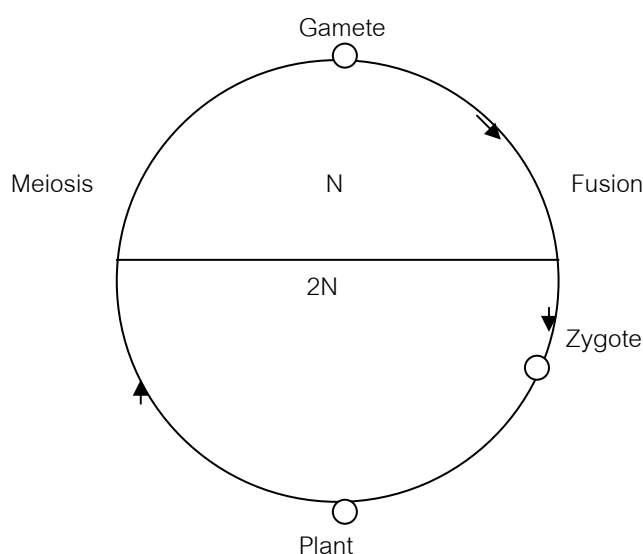
วงชีวิตของสาหร่ายถ้าอาศัยช่วงเวลาที่เกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส เพื่อสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะได้ 3 แบบ คือ (Bold, 1980 : 74)

1. แบบ Zygotic Meiosis วงชีวิตแบบนี้ทลัสส์ปกติที่ปรากฏในธรรมชาติจะมีจำนวนโครโมโซมในเซลล์ 1 ชุด (Haploid) เรียกว่า ต้น แกมีโตไฟท์ (Gametophyte) ส่วนทลัสส์ระยะที่มีโครโมโซม 2 ชุด (Diploid) เรียกว่า ต้น สปอร์โรไฟท์ ไม่ปรากฏในวงจรชีวิต เมื่อถึงฤดูสืบพันธุ์ เซลล์ของต้นแกมีโตไฟท์จะกลายเป็นเซลล์สืบพันธุ์ได้โดยเพราะมีโครโมโซมชุดเดียว และรวมกันเป็นไซโกต ซึ่งมีโครโมโซม 2 ชุด ไซโกตจะมีผนังหนาทนความแห้งแล้งได้ดี เรียกว่า ไซโกสปอร์ (Zygospore) เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม ไซโกสปอร์จะแบ่งนิวเคลียสแบบไมโอซิส ได้สปอร์จำนวนมากซึ่งมีโครโมโซมชุดเดียว และสปอร์เหล่านี้จะเจริญไปเป็นทลัสส์ใหม่ของสาหร่ายชนิดนั้น ๆ ตามแผนผัง



สาหร่ายที่มีวงชีวิตแบบนี้ได้แก่ สาหร่ายสีเขียว เช่น *Mougeotia*, *Oedogonium*, *Spirogyra*, *Ulothrix* และสาหร่ายสีแดง และสีน้ำตาลบางชนิด

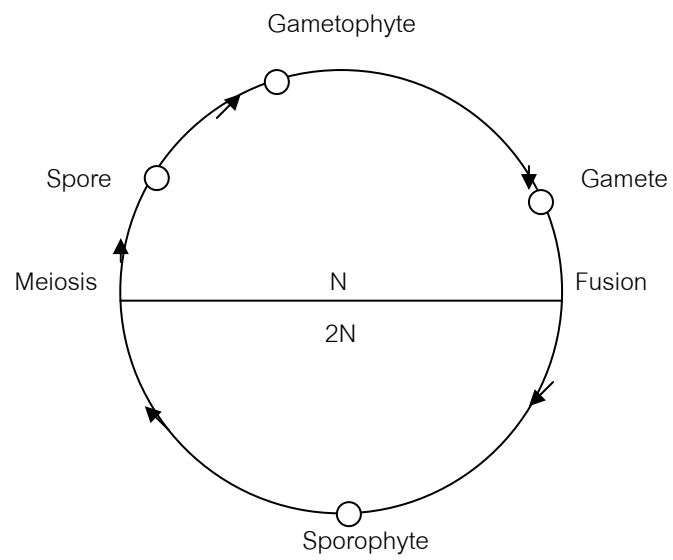
2. แบบ Gametic Meiosis วงชีวิตแบบนี้ที่ลัทธิสปีดเป็นต้นสปอร์โรไฟท์ คือ มีโครโมโซม 2 ชุด ส่วนที่ลัทธิในระยะแกมีโตไฟท์ไม่ปรากฏ เมื่อถึงฤดูสืบพันธุ์ที่ลัทธิจะแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส ได้เซลล์สืบพันธุ์ที่มีโครโมโซมชุดเดียว และรวมกันเป็นไซโกตที่มี โครโมโซม 2 ชุด และพัฒนาไปเป็นที่ลัทธิของสาหร่ายชนิดนั้น ๆ ตามแผนผัง



สาหร่ายที่วงชีวิตแบบนี้ได้แก่ สาหร่ายที่มีที่ลัทธิเป็นท่อ เช่น *Acetabularia*, *Bryopsis*, *Codium*, *Cladophora* ที่อยู่ในน้ำจืด (*Cladophora glomerata*) และสาหร่ายพวกไดอะตอม (Diatom) สาหร่ายสีน้ำตาล เช่น *Fucus*, *Sargassum* เป็นต้น

3. แบบ Sporic Meiosis สาหร่ายที่มีวงชีวิตแบบนี้จะมีที่ลัทธิที่เจริญปรากฏในธรรมชาติทั้ง 2 แบบ คือ ทั้ง ต้นสปอร์โรไฟท์ และแกมีโตไฟท์(n) โดยปรากฏสลับกัน (Alternation of generation)

ในช่วงที่เป็นสปอร์โรไฟท์ ที่ลัทธิจะแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสได้ สปอร์ ซึ่งมีโครโมโซมชุดเดียว สปอร์จะเจริญไปเป็นที่ลัทธิที่มีโครโมโซมชุดเดียวคือ เป็นต้นแกมีโตไฟท์ ต้นแกมีโตไฟท์จะสร้างเซลล์สืบพันธุ์มารวมกันเป็นไซโกตที่มีโครโมโซม 2 ชุด และเจริญเป็นต้นสปอร์โรไฟท์หมุนเวียนเช่นนี้เรื่อยไป ตามแผนผัง



สาหร่ายที่มีวงชีวิตแบบนี้ได้แก่สาหร่ายสีเขียว เช่น *Enteromorpha*, *Ulva* สาหร่ายสีน้ำตาล เช่น *Ectocarpus*, *Laminaria* สาหร่ายสีแดง เช่น *Polysiphonia*

บทที่ 4

การจัดจำแนกสาหร่ายในทางอนุกรมวิธาน

ในที่นี้จะแบ่งตาม Bold และ Wynne (1978) แบ่งได้ 9 Division

1. Cyanophyta (blue-green algae)
2. Chlorophyta (green algae)
3. Charophyta (stoneworts)
4. Euglenophyta (euglenoids)
5. Phaeophyta (brown algae)
6. Chrysophyta (yellow green algae diatom)
7. Pyrrophyta (dinoflagellates)
8. Cryptophyta (cryptomonads)
9. Rhodophyta (red algae)

4.1 Cyanophyta (blue-green algae)

โครงสร้างของเซลล์ (Cell Structure)

พืชใน Class นี้มีขนาดเล็กมาก ในการศึกษาแม้จะใช้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยายสูง ๆ ก็ยากต่อการศึกษารูปร่างอย่างละเอียดได้ ในการศึกษาถึงโครงสร้างของเซลล์ในปัจจุบันจึงใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนทำให้ทราบถึงโครงสร้างภายในของเซลล์ได้ ไม่ว่าพืชนี้จะมีรูปร่างเซลล์เดียวหรือเป็นสาย หรือเป็นกลุ่มก็ตาม มักจะมีสารเมือก ๆ พวกเยลลาติน (gelatin) หุ้มอยู่ภายนอกเซลล์เสมอ โครงสร้างของเซลล์ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีดังนี้.

1. **ผนังเซลล์ (Cell wall)** มี 2 ชั้น อยู่นอกสุดเรียกว่า *outer layer* หรือ *pectin sheath* เนื่องจากมีสารเมือกซึ่งเป็นพวกเพคติน คอมพาวนด์ (pectin compound) และเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ประกอบอยู่ สารเหล่านี้ หรือ pectin sheath นี้เซลล์เป็นผู้สร้างขึ้นและ secrete ออกมา sheath นี้อาจจะหนาเป็นชั้น ๆ และมีสีต่าง ๆ เช่น สีเหลือง สีน้ำตาล สีแดง สีน้ำเงิน หรือสีม่วง หรือไม่มีสีก็ได้ สีต่าง ๆ เหล่านี้ขึ้นอยู่กับ hydrogenion หรือ pH ของ medium หรือ substratum ที่ blue-green algae นั้นอาศัยอยู่ จากการที่มี pectin sheath นี้เองเราจึงสามารถเก็บ blue-green algae โดยห่อกระดาษไว้ได้นาน ๆ

ผนังเซลล์ชั้นถัดเข้าไปเรียก **inner layer** ประกอบด้วยสารพวก (cellulose) พวก blue-green algae ที่มีรูปร่างเป็นสาย หรือ colony จะมี sheath หุ้มทั้งสายหรือทั้ง colony อีกด้วย

2. **Protoplast** บริเวณรอบนอกสุดของ Protoplast ซึ่งอยู่ติดกับผนังเซลล์ชั้น inner layer นั้นจะมีเยื่อบาง ๆ คือ plasma membrane หุ้ม protoplast ไว้ protoplast ของ blue-green algae จะประกอบด้วย

ก. บริเวณรอบนอกเรียก Chromoplasm เป็นบริเวณที่มีสี ซึ่งประกอบด้วยรงควัตถุ (pigment) หลาย ๆ ชนิด ดังนี้

- Chlorophyll A
- Carotenoids
 - β carotenes
 - xanthophylls
- Phycobilins
 - phycocyanin (สีน้ำเงิน)
 - Phycoerythrin (สีแดง)

สิ่งเหล่านี้จะมีสัดส่วนต่างกันตามแต่ชนิดของ blue-green algae แต่ส่วนใหญ่แล้วจะมีสัดส่วนของสีน้ำเงินของ phycocyanin และสีเขียวของ chlorophyll มากกว่าสีอื่น ๆ จึงทำให้ blue-green algae โดยทั่วไปมีสีเขียวแกมน้ำเงิน ในบางชนิดอาจจะมีสีแดงก็ได้ ถ้า blue-green algae นั้น มีสัดส่วนของสีแดงของ phycoerythrin มาก

ข. บริเวณตอนกลางเซลล์เรียก centropasm หรือ central body เป็นบริเวณที่ไม่มีสี จากการนำเอาเซลล์ของ *Oscillatoria chalybia* มาศึกษาด้วยกล้อง electron microscope ซึ่งมีกำลังขยาย 37,000 เท่า พบว่าบริเวณ Chromoplasm ประกอบด้วย membrane ซึ่งเป็นเส้นคู่ขนานกันอยู่ภายใน (เนื้อพื้นที่เป็นเม็ด ๆ) บน membrane มี chlorophyll ติดอยู่และพบว่าบริเวณ centropasm นั้นไม่มี membrane มาแยกออกจากกันโดยเด็ดขาด ดังนั้น บางส่วนของ centropasm อาจจะยื่นเข้ามาในเขตของ chromoplasm หรือบางส่วนของ chromoplasm อาจยื่นเข้าไปใน centropasm ก็ได้ centropasm เองก็มีส่วนประกอบที่ซับซ้อนโดยบางส่วนของ centropasm ประกอบด้วยเนื้อพื้นที่มีลักษณะเป็นเม็ด ๆ และมีสารที่มีลักษณะคล้ายผนังกั้นอยู่ด้วยบางส่วนก็จะใสไม่มีอะไรเลย

บริเวณ centropasm นี้ยังไม่มีผู้ใดรู้แน่ชัดถึงโครงสร้างและหน้าที่ของมัน เข้าใจว่าจะทำหน้าที่คล้าย nucleus โดยมีผู้นำไปย้อมสีที่ย้อม nucleus โดยเฉพาะปรากฏว่าบริเวณนี้ติดสีได้และเมื่อทดสอบดูก็ปรากฏว่ามี nucleic acid อยู่ด้วยมีส่วนประกอบต่าง ๆ คล้าย nucleus ของพืช เพียงแต่ไม่มี nucleous และ nuclear membrane เท่านั้น ไม่มี central vacuole nuclear material มีลักษณะเป็นท่อนหรือเส้นสานกันคล้ายตาข่ายหลวม ๆ ซึ่งทั้งหมดเทียบได้ = 1 โครโมโซม (chromosome) ลักษณะภายในเซลล์คล้ายคลึงกับแบคทีเรีย

-inclusion ที่มีอยู่ในเซลล์จะมีพวกอาหารที่เก็บไว้ด้วย ซึ่งจะเก็บไว้ในรูปของ glycogen นอกจากนั้นยังมี oil หรือ fat droplet ด้วย มี gas vacuole อยู่ภายในเซลล์ เพื่อทำให้ลอยตัวในขณะที่ต้องการแสงพอเหมาะ

การเคลื่อนที่ (movement)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดสามารถเคลื่อนที่ได้ พวกนี้จะไม่ห่อ sheath หุ้ม thallus เช่น *Oscillatoria Spirulina* โดยการเคลื่อนที่ขึ้นลงตามยาว (gliding) หรือวิธีการเคลื่อนที่ขึ้นลงรวมกับการหมุนตัว (

rotation) ตามยวดยานแบบที่เรียใน order Myxobacterales อัตราและทิศทางของการเคลื่อนที่ขึ้นอยู่กับแสงสว่างและอุณหภูมิ

การสืบพันธุ์ (reproduction)

พบแต่การสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ (asexual reproduction) เท่านั้น ไม่พบการสืบพันธุ์แบบมีเพศ (sexual reproduction) การสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศมีหลายวิธีตามลักษณะรูปร่าง ดังนี้

1. พวกที่มีรูปร่างเซลล์เดี่ยวมักสืบพันธุ์โดย cell division

2. พวกที่มีรูปร่างเป็นสาย อาจจะเจริญเติบโตเป็นสายต่อ ๆ ไปโดยไม่จำกัดความยาวก็ได้ แต่ส่วนมากมักจะขาดออกเป็นท่อน ๆ ก่อนที่จะยาวเกินไป เรียกว่า Fragmentation การเกิด fragmentation เนื่องมาจาก

(1) มีสัตว์น้ำมากกระทบโดยแรง

(2) อาจจะโดนกระแสพัด

(3) อาจจะเกิดจากเซลล์ใดเซลล์หนึ่งภายในสายเซลล์นั้นเกิดตายลงจึงทำให้ภายในเซลล์นั้นว่างเปล่า มีแต่ผนังเซลล์อย่างเดียว เป็นจุดอ่อนทำให้สายเซลล์นั้นขาดได้ง่ายเมื่อมีอะไรมากระทบเข้าไม่ว่าสายเซลล์จะขาดออกจากกันไปโดยวิธีใดก็ตาม เมื่อมันขาดออกจากกันแล้วแต่ละท่อนเรียกว่า hormogonium สามารถเติบโตงอกเซลล์ใหม่ออกไปได้อีก ตัวอย่างเช่น Oscillatoria

3. พวกที่มีรูปร่างเป็นสาย จะมีการสร้าง spore ชนิดไม่เคลื่อนที่ เรียก spore นี้ว่า akinete spore ชนิดนี้จะมีผนังหนา มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ธรรมดา มีอาหารสะสมไว้มากซึ่งเป็นพวก cyanophycin granules และมันจะสร้าง spore นี้ขึ้นมาเมื่อภาวะดินฟ้าอากาศไม่เหมาะสม พวก Schizophyceae ไม่มีการสร้างสปอร์ที่เคลื่อนที่ หรือ gamete

พวกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีรูปร่างเป็นสายนี้ยังมีความสามารถเป็นพิเศษอีกอย่างหนึ่งคือ มันสามารถสร้าง heterocyst ได้ ยกเว้น family Oscillatoriaceae เท่านั้น heterocyst เกิดจาก vegetative cell ธรรมดา โดยเซลล์นั้นจะมีขนาดใหญ่ขึ้น ไม่มีสีหรือมีสีเหลืองอ่อน ๆ ลักษณะคล้าย spore ซึ่งอาจจะช่วยให้สายเซลล์ขาดได้ heterocyst เปรียบเสมือนเป็น reproductive structure ที่หมดหน้าที่หรือเสื่อมแล้ว ยกเว้นในบางชนิดและในสภาพพิเศษ

blue-green algae บางชนิดสร้าง endospore บางชนิดสร้าง exospore ซึ่งเกิดจากปลายเซลล์ด้านหนึ่งลงมาทางฐานเซลล์ เช่น Chamaesiphon

รูปร่าง

1. unicellular form พวกนี้มีรูปร่างเซลล์เดี่ยว หรืออาจจะเป็นสายแล้วบิดเป็นเกลียวถี่ ๆ หรือห่าง ๆ ก็ได้ ไม่มี sheath หุ้ม เช่น *Spirulina* sp. พบในน้ำจืดสามารถเคลื่อนที่ได้แบบหมุนเกลียว หรืออาจจะเปลี่ยนแบบขึ้นลง

2. colonial form พวกนี้มักอยู่รวมเป็น (colony) ประมาณ 2,4,8 เซลล์ เช่น *Gleocapsa* แต่ละเซลล์จะมี sheath หุ้ม และเมื่อมารวมกันเป็น colony ก็มี sheath หุ้มรอบกลุ่มหลายชั้น sheath อาจจะมีสีเหลืองหรือสีน้ำตาล

colony ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดมีรูปร่างไม่แน่นอน เช่น เช่น Polycystis หรือ Microcystis พวกนี้มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วทำให้มีปริมาณมากจนเรียกว่า เกิด water bloom ขึ้นในบ่อ ขณะที่เกิด bloom นี้อุณหภูมิในบ่อนั้นจะสูงปริมาณของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสมีมากเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำที่อาศัยอยู่

3. filamentous form หลาย ๆ เซลล์มาต่อกันจนยาวเป็นสาย แบ่งเป็น

ก. ไม่แตกกิ่ง (unbranched) เช่น Oscillatoria , Anabaena เป็นต้น สำหรับ Oscillatoria มักจะมีเซลล์ที่ตายแล้ว เกิดขึ้นเป็นจุดอ่อนที่ทำให้สายเซลล์ขาดได้ง่าย ซึ่งก็นับว่าเป็นการสืบพันธุ์แบบหนึ่ง เพราะแต่ละสายเซลล์ที่ขาดไปนั้นก็สามารถงอกเซลล์ใหม่จนเป็นสายเซลล์ที่ยาวได้

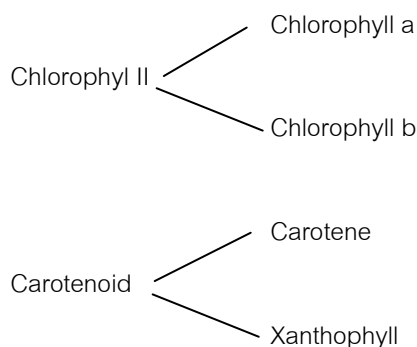
ข. แตกกิ่ง (branched) เช่น Tolypothrix เป็นต้น

4.2 Chlorophyta (green algae)

สาหร่ายในดิวิชันนี้มีสีเขียวเหมือนหญ้า ส่วนประกอบของรงควัตถุจะเป็นเช่นเดียวกับที่พบในพืชชั้นสูง คือ มีคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี แคโรทีน และแซนโทฟิลล์, สาหร่ายสีเขียวเป็นพวกที่พบทั่วไปทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย และในทะเล หรือแม้แต่บนดินก็ขึ้นอยู่ได้ ขนาดมีตั้งแต่ขนาดเล็กมาก ซึ่งประกอบด้วยเซลล์เพียงเซลล์เดียว ไปจนถึงขนาดใหญ่มีลักษณะเป็นต้น หรือทาลัส พวกที่มีขนาดเล็กมักอยู่ในลักษณะเป็นแพลงค์ตอน ส่วนพวกที่มีขนาดใหญ่ก็มีที่ยึดเกาะ

คำว่า Chlorophyta หมายถึง green plants หนังสือบางเล่มเรียกพืชพวกนี้ว่า Chlorophycophyta หมายถึง green algae. Phylum นี้ใหญ่ที่สุดในบรรดาสาหร่ายด้วยกัน มีประมาณ 450 genera ประมาณ 7,000 species พบในน้ำจืดเป็นส่วนใหญ่ ในน้ำเค็มมีบ้าง ตามที่ขึ้นและทั่วไป เปลือกไม้ ใบไม้ ก้อนหินเปียก ๆ และบนหิมะก็มี บางชนิดก็มีชีวิตแบบ epiphyte บางชนิดก็เป็น symbiosis กับพวกรา เกิดเป็น lichen และบางชนิดก็เป็น parasite ของพืชชั้นสูง

รงควัตถุที่อยู่ในเซลล์ของสาหร่ายพวกนี้ประกอบด้วย



รงควัตถุทั้งหมดนี้จะประกอบกันด้วยอัตราส่วนที่เหมือนกับพืชชั้นสูง จึงทำให้มีสีเขียวสด รงควัตถุทั้งหมดนี้จะรวมกันอยู่ภายใน plastid ที่มีชื่อว่าคลอโรพลาสต์ อาจจะมี 1 อันหรือมากกว่า 1 อัน คลอโรพลาสต์ของสาหร่ายชนิดนี้มีรูปร่างหลายแบบด้วยกัน เช่น

- รูปร่างเป็นคล้ายร่างแห : - Oedogonium
- รูปร่างเป็นเม็ด ๆ : - Bryopsis
- รูปร่างเป็นแผ่น : - Ulothrix
- รูปร่างเป็นเกลียว : - Spirogyra
- รูปร่างเป็นรูปดาว : - Zygnema
- รูปร่างเป็นรูปตัว U : - Chlorella

ด้วยเหตุนี้เองจึงมีสาหร่ายที่ถูกแบ่งออกเป็น family และ genus ต่าง ๆ โดยใช้ลักษณะการแตกต่างของรูปของคลอโรพลาสต์มาแบ่งเป็นกลุ่มย่อย ๆ สาหร่ายบางพวกก็ใช้ลักษณะรูปร่างของคลอโรพลาสต์มาตั้งเป็นชื่อของสาหร่ายนั้น เช่น สาหร่ายสีเขียวชนิดหนึ่งมีคลอโรพลาสต์พันเป็นเกลียว ก็เลยเรียกสาหร่ายนั้นว่า Spirogyra ซึ่งมาจากคำว่า Spiral นั่นเอง

โครงสร้าง

ผนังเซลล์ประกอบด้วย cellulose ซึ่งบางชนิดก็มี pectin มาเคลือบอยู่ภายนอกบาง ๆ บางชนิดก็มี chitin เคลือบบาง ๆ ด้วย บางชนิดก็จะมี calcium carbonate แทรกอยู่ในชั้นของ pectin layer นิวเคลียสของสาหร่ายสีเขียวคล้ายคลึงกับของพืชชั้นสูง โดยมีรูปร่างเป็นกลุ่มก้อนเห็นได้ชัดเจน (eukaryotic nucleus) แต่ละเซลล์ก็มีนิวเคลียส 1 อัน ซึ่งอาจจะมี nucleolus 1 หรือมากกว่า 1 อยู่ในไซโทพลาสซึม ยกเว้นในบางชนิดเท่านั้นที่จะมีหลาย ๆ นิวเคลียสภายใน 1 เซลล์ นอกจากนี้แล้วยังมีแวคิวโอลขนาดใหญ่อยู่ในเซลล์อีกด้วย พวก motile cell จะมี contractile vacuole ซึ่งอยู่ใกล้ฐานของ flagellum อาหารที่เก็บไว้ก็คือ pyrenoids ฝังอยู่ในคลอโรพลาสต์ เข้าใจว่า pyrenoid นี้เป็นโครงสร้างที่มีโปรตีนเป็นแกนกลางและมีแผ่นแป้งหุ้มล้อมรอบอยู่

เนื่องจากสาหร่ายสีเขียวมีจำนวนมากมาย ดังนั้น จึงมีรูปร่างหลายชนิด มีตั้งแต่เซลล์เดี่ยวจนถึงหลายเซลล์ ดังนี้

- พวกที่มีรูปร่างเซลล์เดี่ยวอาจจะเคลื่อนที่ได้ หรือเคลื่อนที่ไม่ได้ ถ้าเคลื่อนที่ได้ก็มักจะมี flagellum อยู่ทางด้านหน้า flagellum อาจจะมี 1,2 หรือ 4 เส้นซึ่งแต่ละเส้นมักจะยาวเท่า ๆ กัน
 - พวกที่อยู่เป็นโคโลนีอาจจะพวกเซลล์เดี่ยวมาอยู่รวมกันหรือเป็นพวกหลายเซลล์ก็ได้ โดยจะอยู่เป็นกลุ่มหรือเป็นสายยาว หรือเป็นแผ่น หนาหลายชั้นก็มี
- ทั้ง 2 พวกนี้อาจจะมีเมือกหุ้มหรือไม่ก็ได้

การสืบพันธุ์

แบบไม่มีเพศ (asexual reproduction) อาจจะเป็นแบบการแบ่งเซลล์ (cell division) หรือ fragmentation หรืออาจจะสร้างสปอร์ ทั้งเคลื่อนที่และไม่เคลื่อนที่

แบบมีเพศ (sexual reproduction) อาจจะเป็นแบบ isogamy หรือ heterogamy ก็ได้ gametangium จะต้องเซลล์เดี่ยวเสมอ

ตัวอย่างของสาหร่ายสีเขียว

พวกที่เคลื่อนที่ไม่ได้

Chlorella

เป็นสาหร่ายสีเขียวที่มีรูปร่างกลม ๆ เซลล์เดียว ขนาดเล็กมากจนไม่สามารถจะศึกษาโครงสร้างภายในเซลล์ได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา ภายในเซลล์มีคลอโรพลาสต์ ที่เป็นแผ่นและโค้งเป็นรูปตัวยูอยู่ทางด้านหนึ่งของเซลล์ มีนิวเคลียส ไมโทคอนเดรียและแวคิวโอลด้วยพบได้ตามน้ำจืดทั่ว ๆ ไปหรือภายในเซลล์หรือเนื้อเยื่อของพวกฟองน้ำ Stentor, Paramecium และ Hydra สืบพันธุ์โดยการสร้างสปอร์ที่ไม่เคลื่อนที่อาจจะเป็น 2, 4, 8 หรือ 16 สปอร์ เมื่อออกมาจากเซลล์แม่แล้วก็เจริญเติบโตเป็นเซลล์ของ Chlorella ใหม่ต่อไป

Scenedesmus

เป็นสาหร่ายสีเขียวพวกเซลล์เดียวที่มาอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม และมี matrix ซึ่งเป็นสารพวก pectin ล้อมรอบอยู่ โคโลนีของ Scenedesmus มักจะเรียกว่า coenobium ซึ่งส่วนมากจะประกอบด้วยเซลล์ 4 เซลล์ แต่อาจจะมี 8 หรือ 16 เซลล์ก็ได้ แต่ละ coenobium จะมี spine ยื่นออกไปทั้ง 4 ด้าน ภายในเซลล์แต่ละเซลล์จะมีคลอโรพลาสต์ starch grain จะอยู่รอบ ๆ pyrenoid มีแวคิวโอลขนาดใหญ่อยู่ที่ปลายทั้ง 2 ของเซลล์ นิวเคลียสมีขนาดเล็กอยู่ประมาณกลางเซลล์

การสืบพันธุ์ แต่ละเซลล์ภายในโคโลนีทำการแบ่งเซลล์ทำให้เกิด 4 celled daughter colony ขึ้นมา เมื่อออกมาจากโคโลนีแม่แล้วก็เติบโตเป็นโคโลนีใหม่ต่อไป

Pediastrum

เป็นสาหร่ายที่ชอบอยู่ตามบ่อหรือคู อยู่กันเป็นโคโลนี ประกอบด้วยเซลล์หลาย ๆ เซลล์ มีลักษณะเป็นแผ่นมีเหลี่ยมสวยงาม

สืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ โดยสร้าง zoospore เป็นที่น่าสังเกตว่า Pediastrum ผลิตเซลล์ที่เคลื่อนที่ได้ (zoospore) ซึ่งเป็นข้อคิดว่าพวกสาหร่ายสีเขียวที่เคลื่อนที่ไม่ได้นี้น่าจะสืบเนื่องมาจากบรรพบุรุษที่มี flagellum มาก่อน

สืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ โดยการผลิต isogamete เมื่อ isogamete มารวมกันได้ไซโกตแล้ว ไซโกตก็จะสร้าง zoospore ว่ายน้ำไประยะหนึ่งจึงหยุดพักแล้วเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์เหลี่ยม ๆ มารวมกันเป็นโคโลนีต่อไป

พวกที่เคลื่อนที่ได้

Chlamydomonas

เป็นสาหร่ายสีเขียวชนิดเซลล์เดียวที่เคลื่อนไหวได้ มีอยู่ตามบ่อน้ำนิ่ง ๆ ดินแฉะ ๆ หรือตามสระว่ายนํ้า ซึ่งถ้ามีเป็นจำนวนมากจะทำให้นํ้ามีสีเขียว เซลล์มีรูปร่างกลม ๆ หรือรี คลอโรพลาสต์ที่อยู่ภายในเซลล์มีขนาดใหญ่เป็นแผ่นและเว้าตรงกลางคล้ายตัวยู ภายในคลอโรพลาสต์มี pyrenoid มี eye spot สีแดง บริเวณกลางเซลล์มีนิวเคลียส 1 อัน และ contractile vacuole 2 อัน ทางด้านหน้าของเซลล์ เหนือขึ้นไปเป็น flagellum 2 เส้น เนื่องจาก contractile vacuole สามารถบีบตัวและพองตัวได้สม่ำเสมอจึงเข้าใจว่ามีหน้าที่เกี่ยวกับการขับถ่ายของเหลว ผังเซลล์ประกอบด้วยเซลล์ลูโลส

สืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ โดยการสร้างสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้เรียกว่า zoospore มี 2, 4 หรือ 8 zoospore อยู่ในเซลล์แม่ มีลักษณะเหมือนเซลล์แม่ทุกประการแต่ขนาดเล็กกว่า เมื่อผนังของเซลล์แม่แตกออก zoospore ก็จะออกมาว่ายน้ำและเติบโตเป็น Chlamydomonas ตัวใหม่ต่อไป

สืบพันธุ์แบบมีเพศ โดยการสร้าง gamete เป็นจำนวน 8, 16 หรือ 32 gamete อยู่ภายในเซลล์แม่เป็นชนิด isogamete เมื่อ gamete เหล่านี้ออกจากเซลล์แม่มาอยู่ในน้ำก็จะว่ายน้ำแล้วมาจับคู่กันแบบ isogamy ซึ่งโดยปกติแล้วมักจะเป็น gamete ที่มาจากเซลล์แม่ที่ต่างกัน ไฮโกตที่ได้เปลี่ยนเป็น zygospore ซึ่งมีผนังหนา ทนทานต่อสภาพที่ไม่เหมาะสมได้ เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมดี นิวเคลียสของ zygospore ซึ่งเป็น diploid ก็แบ่งตัวลดจำนวนโครโมโซมได้ 4 nuclei แต่ละ nuclei ก็จะกลายเป็น zoospore ออกมาจากผนังของ zygospore ว่ายน้ำและเจริญเติบโตเป็น Chlamydomonas ต่อไป

Pandorina

โคโลนีของ Pandorina ประกอบด้วยเซลล์ที่มีประมาณ 4, 8, 16 หรือ 32 เซลล์ แต่ละเซลล์มีลักษณะเหมือน ๆ กันมาอยู่รวมกันเป็นก้อนกลม เซลล์จะอยู่ที่ผิว ๆ ตรงกลางจะกลวง รอบ ๆ โคโลนีมี gelatinous matrix หุ้ม แต่ละเซลล์มีลักษณะคล้าย Chlamydomonas

สืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ แต่ละเซลล์สามารถสร้าง zoospore ได้ประมาณ 16-32 zoospore

สืบพันธุ์แบบมีเพศ โดยผลิต heterogamete คือ gamete มีขนาดไม่เท่ากัน เมื่อมารวมกันจึงเป็นแบบ heterogamy ไฮโกตจะสร้าง zoospore 1 ตัว หรือมากกว่า 1 แล้วรวมกันเป็นโคโลนีใหม่ต่อไป นิวเคลียสของไฮโกตแบ่งตัวลดจำนวนโครโมโซม

Volvox

โคโลนีมีลักษณะกลมประกอบด้วยเซลล์หลายร้อยเซลล์จนถึง 40,000 เซลล์เรียงเป็นแถวที่ผิวหน้าทำให้เป็นช่องกลวงภายใน แต่ละเซลล์ยึดเกาะกันด้วยสาย gelatin โครงสร้างของแต่ละเซลล์ก็เช่นเดียวกับ

Chlamydomonas

สืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ เซลล์บางเซลล์ภายในโคโลนีจะมีการแบ่งตัวหลายครั้งจนได้หลายเซลล์เกาะตัวเป็นกลุ่มเล็ก ๆ กลม ๆ กลุ่มเซลล์ใหม่นี้มีลักษณะเหมือนโคโลนีเดิมแต่เล็กกว่า เมื่อหลุดออกจากโคโลนีเดิมแล้วก็เติบโตเป็นโคโลนีใหม่ต่อไป

สืบพันธุ์แบบมีเพศ เซลล์บางเซลล์จะเปลี่ยนแปลงเป็น male sex organ เรียก antheridium บางเซลล์เปลี่ยนเป็น female sex organ เรียก oogonium ส่วนภายใน oogonium มี female gamete หรือ egg อยู่เพียงใบเดียวซึ่งไม่มี sperm cell มี flagellum 2 เส้น ส่วนภายใน antheridium มี male gamete หรือ sperm อยู่เพียงใบเดียวซึ่งไม่มี flagellum มีขนาดใหญ่เก็บอาหารไว้มาก sperm จะว่ายน้ำเข้าไปหา egg เกิด fertilization ขึ้น กระบวนการที่ sperm มีขนาดเล็กเคลื่อนที่เข้าร่วมกับ egg ซึ่งมีขนาดใหญ่เคลื่อนที่ไม่ได้ เช่นนี้เรียกว่า Oogamy zygote เปลี่ยนเป็นผนังหนาหรือที่เรียกว่า oospore แล้วจึงมีการลดจำนวนโครโมโซมของนิวเคลียสของ oospore เปลี่ยนแปลงเป็น zoospore ซึ่งจะรวมกันเป็นโคโลนีใหม่ต่อไป

จะเห็นว่าในพวก Volvox นี้เริ่มมีวิวัฒนาการเกิดขึ้นโดยมีการเปลี่ยนแปลงจากเซลล์เดี่ยวที่เคลื่อนที่ได้มาเป็นโคโลนีใหญ่ และบางเซลล์โคโลนีก็จะทำหน้าที่เป็น vegetative cell บางเซลล์ก็เปลี่ยนเป็น

reproductive cell นี้เองเป็นจุดเริ่มต้นความก้าวหน้าของ sexual reproduction จาก isogamy เช่น Chlamydomonas มาเป็น heterogamy เช่น Pandorina และมาเป็น oogamy เช่น Volvox เป็นต้น

การสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ อาจจะเป็นแบบ fragmentation หรืออาจจะสร้าง zoospore ก็ได้ ในการสร้าง zoospore นั้น vegetative cell จะเปลี่ยนเป็น zoosporangium โดยมี zoospore อยู่ภายใน ตั้งแต่ 2, 4, 8, 16 หรือ 32 zoospore zoospore แต่ละตัวมีลักษณะคล้าย Chlamydomonas ต่างกันตรงที่ zoospore มี flagellum 4 เส้น เมื่อ zoospore ออกมาจากเซลล์แม่แล้วก็จะว่ายน้ำไปพักหนึ่งแล้วหยุดอยู่กับที่ เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม zoospore ก็จะออกเป็นสายเซลล์ใหม่ทันที

การสืบพันธุ์แบบมีเพศ vegetative cell จะเปลี่ยนเป็น gametangium ซึ่งภายในมี gamete 8, 16, 31 หรือ 64 gamete เป็นแบบ isogamete มีลักษณะคล้าย zoospore แต่ gamete มีขนาดเล็กกว่าและมี flagellum 2 เส้น เมื่อ gamete ออกจากเซลล์แม่ว่ายน้ำแล้วก็จะมารวมกันแบบ isogamy gamete ที่มารวมกันต้องมาจากต่างสายกันไซโกตจะเปลี่ยนเป็น zygospore หลังจากพักอยู่ได้ระยะหนึ่ง zygospore จะแบ่งตัวเองแบบไมโอซิส ได้ 4 zoospore แล้ว zoospore เหล่านี้ก็จะออกเป็นสายเซลล์ใหม่โดยตรง

หลังจากเกิด zygospore แล้ว การงอกเป็นสายเซลล์ขึ้นมาใหม่มักจะพักอยู่นาน ต้องสภาพแวดล้อมเหมาะสมจริง ๆ จึงจะงอกเป็นสายใหม่ จากเหตุนี้จึงทำให้เห็นว่าในพวก lower organism อื่น ๆ sexual reproduction อาจะเกิดขึ้นสถานที่ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของมัน

Ulva เป็นสาหร่ายที่ช่อบอยู่ในทะเล ถ้ามีขนาดเล็กก็มีลักษณะเป็นแผ่นคล้ายริบบิ้นสีเขียว ถ้ามีขนาดใหญ่จะมีลักษณะคล้ายใบไม้ จึงมีชื่อเรียกทั่ว ๆ ไปว่า sea lettuce วงชีวิตของ Ulva น่าสนใจมาก เพราะคล้ายคลึงกับพืชชั้นสูงบางชนิดในกรณีที่มี alternative of generation โดยจะมี haploid plant สร้าง gamete gamete มารวมกันได้ไซโกตเจริญเติบโตเป็น diploid plant สร้าง zoospore ซึ่งมีโครโมโซม 1 ชุด เป็น haploid โดยจะมีการแบ่งตัวลดจำนวนโครโมโซม จะเห็นได้ว่ามีระยะที่พืชผลิต gamete เป็น haploid (gametophyte) สลับกับระยะที่พืชผลิตสปอร์เป็น diploid (sporophyte) ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า alternation of generation พืชที่อยู่ในระยะ gametophyte จะมีลักษณะเหมือนกับ sporophyte ในบ้านเราพบ Ulva มากที่ จังหวัดภูเก็ต

4.3 Euglenophyta (euglenoids)

เป็นพวกเซลล์เดี่ยวที่มี flagellum ติดอยู่ทางด้านหน้าของเซลล์ ตัวอย่างเช่น Euglena, Phacus และ Trachelomonas มีลักษณะที่คล้ายสัตว์ก็เพราะมี contractile vacuole อยู่ทางด้านหน้าของเซลล์ และไม่มีผนังเซลล์ที่เป็น cellulose เนื่องจากเหตุนี้เองจึงเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้เสมอ ที่มีลักษณะคล้ายพืชก็เพราะมีรงควัตถุเหมือนกับสาหร่ายใน Phylum Chlorophycophyta คือมีคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ ต่างกับ Chlorophycophyta ตรงที่อาหารที่เก็บไว้ของ Euglenophycophyta เป็น paramylum (carbohydrate ชนิดหนึ่งที่มีลักษณะคล้ายแป้ง) และไขมัน การสืบพันธุ์แบบมีเพศยังไม่ทราบแน่ชัด

Euglena มีรูปร่างคล้ายกระสวย (spindle – shaped) มี eyespot สีแดงอยู่ทางด้านหน้าของเซลล์อีกด้วย ซึ่งไวต่อแสงมาก นิวเคลียสมีขนาดใหญ่อยู่กลางเซลล์ มีช่องให้อาหารเข้าไปในเซลล์ได้ (gullet)

การสืบพันธุ์ของ *Euglena* เป็นแบบ binary fission โดยแบ่งตัวตามยาว นิวเคลียสแบ่งแบบไมโทซิส บางชนิดจะมีแว่นตัวเป็นก้อนกลม มี gelatin หุ้มไว้ มีผนังหนา แบบหลังนี้เรียกว่า cyst อยู่ในระยะพักตัวมีชีวิตอยู่ได้นานในสภาวะที่ไม่เหมาะสม จะพบพวก euglenoid ได้ตามบ่อน้ำที่มีสารอินทรีย์มาก ๆ เป็นสาหร่ายที่ไม่มี ความสำคัญอะไรมากนัก นอกจากเป็นอาหารของพวกปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ เนื่องจากยังไม่มีผู้ใดทำวิจัยหา โปรตีนจากพวก euglenoid จึงยังไม่ทราบว่า euglenoid จะมีโปรตีนสูงเช่นเดียวกับสาหร่ายสีเขียวบางชนิด หรือไม่

4.4 Phaeophyta (brown algae)

สาหร่ายชนิดนี้มีสีน้ำตาลหรือสีน้ำตาลคล้ำเพราะมีสีเขียวปน สีที่ปรากฏนี้เนื่องมาจากรงควัตถุหลาย ชนิด คือ chlorophyll a, chlorophyll c, carotene, xanthophyll และ fucoxanthin เฉพาะ fucoxanthin เป็น รงควัตถุสีน้ำตาล และมีมากกว่ารงควัตถุอื่น ๆ สาหร่ายสีน้ำตาลส่วนมากอยู่ในน้ำทะเลตามแถบชายฝั่งที่มี อากาศเย็น มีบางชนิดอยู่ในเขตอบอุ่น มีเพียง 3 สกุล (genus) เท่านั้นที่อยู่ในน้ำจืด (fresh water) ที่อยู่ในน้ำ ทะเล มักจะเกาะและเจริญเติบโตอยู่บนก้อนหินหรือสิ่งใดสิ่งหนึ่ง หรืออาจจะดำรงชีวิตเป็นแบบอิสระไม่เกาะอยู่ กับสิ่งใด หรืออาจจะมีชีวิตแบบ epiphyte ก็ได้ อาจจะอยู่ใต้ทะเลซึ่งลึกประมาณ 120 เมตร ก็ได้ สาหร่ายสี น้ำตาลนี้มักจะเรียกชื่อทั่ว ๆ ไปว่า sea weed ทั้งนี้เพราะในที่ ๆ มีสาหร่ายพวกนี้เป็นจำนวนมากโดยการเกาะ อยู่ตามโขดหินหรือลอยอยู่ในน้ำทะเลก็ตามจะเหมือนกันเป็นวัชพืชที่ไร้ประโยชน์แต่แท้จริงแล้วสาหร่ายเหล่านี้ มีประโยชน์อย่างมากมาย

รูปร่างลักษณะและขนาด

พวกสาหร่ายสีน้ำตาลมีขนาดรูปร่างต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ขนาดเล็กจนถึงดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ถึงขนาด ใหญ่เห็นด้วยตาเปล่าได้ บางชนิดก็มีรูปร่างเป็นสา ยาวแตกกิ่งก้าน เช่น *Ectocarpus* บางชนิดก็มีรูปร่างแผ่ แบนใหญ่หรือคล้ายใบไม้ใบกว้างอยู่ในน้ำ เช่น *Laminaria* บางชนิดก็มีรูปร่างคล้ายต้นปาล์มขนาดเล็ก ๆ ที่ เรียกว่า sea palm ที่เป็นต้นไม้เล็ก ๆ ก็มีเช่น *Sargassum* ที่เป็นแผ่นรูปร่างคล้ายพัด เช่น *Padina*

ทาสลัสของสาหร่ายชนิดนี้ประกอบด้วยเซลล์หลายเซลล์ อาจจะมีเนื้อเยื่อ parenchyma ประกอบด้วย vegetative body มีการแบ่งหน้าที่ต่าง ๆ กัน โดยจะมีส่วนที่คล้ายรากเรียก holdfast ทำหน้าที่เกาะยึดเท่านั้น ไม่ทำหน้าที่ดูดเกลือแร่อย่างรากและไม่มีรูปร่างอย่างรากด้วย ส่วนถัดขึ้นมาจาก holdfast ก็มีลักษณะคล้ายลำ ต้นเรียกว่า stipe และมีส่วนที่คล้ายใบเรียกว่า blade บางชนิดที่ blade จะมีถุงลมเรียกว่า bladder ช่วย ให้ทาสลัส ลอยน้ำได้ การเจริญเติบโตเป็นแบบ intercalary cell division คือการเติบโตที่ไม่ใช่ที่ยอดและโคน เช่น พวก kelp บางชนิดมี meristematic region ที่รอยต่อของ stipe และ blade หรืออาจจะมีการเจริญเติบโต เกิดขึ้นที่ apical cell ก็ได้ เซลล์ต่าง ๆ ที่มาประกอบกันเป็นทาสลัสนั้นจะคล้ายคลึงกับพวกพืชชั้นสูงโดยที่แต่ละ เซลล์มีนิวเคลียสอันเดียวและมีแวคิวโอลด้วย มีพลาสติคมากกว่าหนึ่ง แต่ไม่มี pyrenoid

พวกที่มีรูปร่างใหญ่ stipe จะแบ่งออกเป็นเขตต่าง ๆ โดยเซลล์รอบนอกหรือผิว ๆ ของทาสลัสเป็นเซลล์ พวก epidermis เข้าไปเป็นส่วนหนึ่งเรียกว่า cortex ส่วนนี้มีพลาสติคอยู่ภายในเซลล์ส่วนที่อยู่บริเวณตรงกลาง

ไม่มีพลาสติด เรียกว่า medula ในบริเวณ cortex และ medula นี้ เซลล์บางเซลล์มีลักษณะคล้าย sieve-tube cell ทั้งนี้เพราะเซลล์เหล่านั้นมีรูปลคล้าย sieve plate เพื่อทำหน้าที่นำอาหารจากส่วนของ blade ที่สังเคราะห์แสงได้ไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่นที่ stipe และ holdfast ด้วยเหตุนี้เองจึงนับได้ว่าพวก brown algae ที่มีขนาดใหญ่ ๆ มี vascular tissue 1 ชนิด คือ phloem การที่มีไม่มี xylem ก็เพราะพวกนี้อยู่ในน้ำมีน้ำล้อมรอบต่าง ต่างกับพวกพืชชั้นสูงซึ่งจำเป็นต้องมี xylem ทำหน้าที่นำน้ำให้กับต้นพืช

การสืบพันธุ์ มีทั้งแบบไม่มีเพศและแบบมีเพศ

แบบไม่มีเพศ

1. fragmentation เช่น *Sargassum natans*
2. สร้าง zoospore ภายใน zoosporangium

แบบมีเพศ

อาจจะเป็น isogamy, heterogamy หรือ oogamy พบทุก species

ตัวอย่าง สาหร่ายสีน้ำตาลบางชนิด

Ectocarpus

มีขนาดเล็กเกาะก้นหินอยู่ในทะเล มีรูปร่างเป็นสายและแตกกิ่งก้าน vegetative cell เป็นเซลล์รูปทรงกระบอกสั้น ๆ มี 1 นิวเคลียส พลาสติดมีขนาดเล็กและมีเป็นจำนวนมาก มีการเจริญเติบโตแบบ intercalary สืบพันธุ์แบบไม่มีเพศโดยสร้าง zoosporangium ซึ่งมี zoospore ที่มี flagellum 2 เส้นอยู่ใน zoospore จะงอกเป็นทาสลัสใหม่ที่มีลักษณะเหมือนต้นเดิม แล้วทาสลัสที่เกิดใหม่นี้เมื่อเติบโตเต็มที่จะสร้าง multicellular gametangium ขึ้น ภายในมี gamete ที่มี flagellum 2 เส้น เป็นชนิด isogamete gamete ที่มารวมกันจะต้องมาจากทาสลัสที่ต่างกัน คือเป็น heterothallic ไฮโกตก็จะไปงอกเป็นทาสลัสใหม่ ซึ่งจะสร้าง zoosporangium ต่อไป จัดว่ามีชีวิตเป็นแบบ alternation of generation เหมือนพวกสาหร่ายสีเขียวที่มีชื่อว่า Ulva โดยทาสลัสที่ให้กำเนิด zoospore เป็น sporophyte และมีเซลล์ที่มีโครโมโซม 2 ชุด zoosporangium จะแบ่งตัวลดจำนวนโครโมโซม ให้กำเนิด zoospore ส่วนทาสลัสที่ผลิต gamete ก็เป็น gametophyte ซึ่งมีโครโมโซม 1 ชุด เมื่อ gamete มารวมกันก็ได้ไฮโกตที่มีโครโมโซม 2 ชุด

บางที่เกิดการสืบสนกันขึ้นโดยทาสลัสจะผลิต diploid zoospore ขึ้นมาเพราะไม่มี meiosis ใน zoosporangium ในบ้านเราพบ Ectocarpus ตามชายหาดของอ่าวที่บ้านแพ จังหวัดระยอง

Laminaria

สาหร่ายชนิดนี้มีชื่อทั่ว ๆ ไปว่า "kelp" มีขนาดใหญ่ชอบขึ้นอยู่บนก้อนหินตามชายฝั่งทะเลที่มีอากาศเย็นจัด รูปร่างคล้ายใบไม้ ไม่พบในบ้านเรา ทาสลัสประกอบด้วย holdfast, stipe และ blade มี alternation of generation ต่างกันอย่างเด่นชัด โดยระยะ sporophyte จะมีขนาดใหญ่และระยะ gametophyte มีขนาดเล็ก การแตกต่างของระยะทั้งสองนี้เรียก heteromorphic ระยะ gametophyte มีช่วงสั้น ญี่ปุ่นนิยมนำสาหร่ายชนิดนี้มาประกอบอาหาร เรียก Kom bu

การสืบพันธุ์ในระยะ sporophyte นี้จะสร้าง zoosporangium ขึ้นที่บนบริเวณผิวของ blade, zoospore เกิดขึ้นจากการแบ่งแบบ meiosis แล้ว zoospore เหล่านี้ก็มางอกเป็นทาสลัสเล็ก ๆ 2 ชนิด คือ male

gametophyte ซึ่งมีรูปร่างเป็นสายขนาดเล็กมากแตกกิ่งก้าน ที่ปลายกิ่งมี antheridium ซึ่งมี sperm อยู่ภายใน sperm มี flagella 2 เส้น ส่วน female gametophyte ก็มีลักษณะเป็นสายเช่นเดียวกับ male gametophyte แต่มี oogonium ซึ่งภายในมี egg 1 อัน sperm ออกมาว่ายน้ำไปหา egg เข้ารวมกับ egg แบบ oogamy เกิดไซโกต เป็น Laminaria sporophyte ต่อไป

Fucus

สาหร่ายสีน้ำตาลชนิดนี้มักมีชื่อทั่ว ๆ ไปว่า rockweed เพราะชอบขึ้นอยู่บนก้อนหิน ทัลลัสมี stipe ล้วน ๆ ซึ่งยึดติดกับก้อนหินด้วย holdfast บางชนิดมีขนาด 1-3 ฟุต มี blade เป็นแผ่นแบน แฉก ปลายแตกเป็นแฉกรูปตัว Y มีกิ่งก้านแตกเป็นระยะ ๆ และมี bladder ที่ปลาย blade พองกว่าส่วนอื่น ๆ และมีปุ่มขรุขระเรียกว่า receptacle มีช่องเล็ก อยู่ที่ receptacle นี้ ช่องเหล่านี้จะติดต่อกับโพรงเล็ก ๆ ภายใน blade เรียกว่า conceptacle เป็นส่วนที่มี gametangium อยู่ภายใน

ถ้าตัดตามขวางผ่าน blade ตรงบริเวณที่มี conceptacle จะพบว่า conceptacle มีลักษณะเป็นหลุม ปากหลุมเปิดติดต่อกับภายนอกได้ ภายในหลุมมีขนหรือเซลล์ที่ติดต่อกันเป็นสายเรียกว่า paraphyse อยู่เต็มระหว่าง paraphyse มี antheridium หรือ oogonium แทรกอยู่ oogonium เป็นเซลล์รูปร่างกลมขนาดใหญ่ อยู่บนก้านสั้น ๆ ที่งอกออกมาจากผนังของ conceptacle แต่ละ oogonium จะมี egg 8 เซลล์ด้วยกัน ส่วน antheridium เป็นเซลล์เล็ก ๆ เกิดบนกิ่งที่อยู่ภายใน conceptacle ภายในมี sperm ที่มี flagellum 2 เส้น ชนิดอวัยวะสืบพันธุ์ทั้ง 2 ชนิดอาจจะอยู่ภายใน conceptacle อันเดียวกัน บางชนิดจะอยู่ต่าง conceptacle กัน egg และ sperm จะออกมาจาก conceptacle ทางช่องเปิด ด้วยเหตุนี้เอง egg และ sperm จะมา fertilized กันในน้ำทะเล ไซโกตจะแบ่งเซลล์แล้วเปลี่ยนเป็นต้น Fucus sporophyte ใหม่ต่อไป

Fucus จะมีระยะที่เป็น haploid generation สั้นมาก ระยะ haploid ก็คือ gamete นั้นเอง ยังไม่พบ Fucus ในบ้านเรา

4.5 Chrysophyta (yellow green algae diatom)

สาหร่ายพวกนี้มีสีเหลืองเกือบจะเป็นสีน้ำตาล หรือบางชนิดก็มีสีเขียวแกมเหลือง สีที่มีอยู่ใน plastid ของเซลล์ของพืชเหล่านี้จะมี chlorophyll a ไม่มี chlorophyll b แต่อาจจะมี chlorophyll ชนิดอื่น ๆ ปนอยู่บ้าง ในบางชนิด นอกจากนั้นก็มี carotene และ xanthophyll ผสมอยู่ด้วย อาจจะอยู่แบบเซลล์เดี่ยว ๆ หรืออยู่รวมกันเป็นโคโลนี ซึ่งมีรูปร่างต่าง ๆ กันก็ได้ บางชนิดเคลื่อนที่ได้ ที่มีรูปร่างเป็นสายก็มีแต่น้อยอาหารที่เก็บสะสมไว้เป็นพวกน้ำมันและ volutin ซึ่งเป็นสารสีขาวไม่ละลายน้ำ ยังไม่มีใครทราบถึงองค์ประกอบที่เป็นสารเคมีอย่างแน่ชัด นิวเคลียสมีขนาดเล็กมาก

การแบ่งพืชใน Phylum นี้ออกเป็นพวก ๆ ก็ยังไม่เป็นที่แน่นอน ในที่นี้จะแบ่งออกเป็น 2 class คือ

Class Xanthophyceae หรือ Chrysophyceae ตัวอย่างเช่น Vacchieria

Class Bacillariophyceae ตัวอย่างเช่น diatom

Vaucheria (Class Xanthophyceae)

Fuller ได้จัดให้อยู่ในพวกสาหร่ายสีเขียว แต่ Robbins จัดให้อยู่ใน Phylum Chrysophycophyta จะพบ Vaucheria ได้ตามดินแฉะ ๆ เช่น ในเรือนเพาะชำต้นไม้ โดยจะเห็นเป็นแผ่นสีเขียว ๆ ที่อยู่ในน้ำก็มี

รูปร่างเป็นสายกลมยาว ไม่มีผนังมักเป็นเซลล์ตลอดสาย ดังนั้น จึงมีลักษณะคล้ายท่ออาจจะมีกิ่งก้านเล็กน้อย มีนิวเคลียสเป็นจำนวนมาก มีแวคิวโอลขนาดใหญ่อยู่ตรงกลาง ไส้โตพลาสซึมอยู่ใต้ผนังเซลล์บาง ๆ และอยู่รอบแวคิวโอล ภายในไส้โตพลาสซึม ด้วยลักษณะที่คล้ายท่อคือไม่มีผนัง และนิวเคลียสเป็นจำนวนมากเช่นนี้เรียกว่า coenocytic filament

พืชที่มีลักษณะ coenocytic นี้เข้าใจว่าเจริญและเปลี่ยนแปลงมาจากรากเซลล์เดี่ยว ๆ ที่มีลักษณะค่อนข้างยาว นิวเคลียสของเซลล์นี้แบ่งตัวหลายครั้งหลายหน แต่ไม่มีผนังเซลล์เกิดขึ้นมาขึ้นเป็นเซลล์ ๆ ไป ดังนั้น จึงปรากฏผลออกมาเป็นท่อยาวมีนิวเคลียสมากมายดังกล่าวแล้ว

การสืบพันธุ์

มีทั้งแบบไม่มีเพศและแบบมีเพศ

แบบไม่มีเพศ มี 3 แบบด้วยกันซึ่งอาจจะเกิดอย่างใดอย่างหนึ่งก็ได้ แล้วแต่นิคมของ Vaucheria ดังนี้

1. พวก Vaucheria ที่อยู่ในน้ำ เมื่อถึงเวลาสืบพันธุ์จะมีผนังมาตัดขวางที่บริเวณปลายสาย ทำให้สายเซลล์แบ่งออกเป็น 2 ตอน ทางตอนปลายที่ถูกตัดออกนี้เรียกว่า zoosporangium โปรโตพลาสท์ที่อยู่ภายในทั้งหมดก็จะเปลี่ยนเป็น zoospore 1 ตัว โดยมีนิวเคลียสอยู่ใน zoospore เป็นจำนวนมาก ต่อมาจะมีขน (cilia) เกิดขึ้นรอบ zoospore ดังนั้น zoospore นี้ก็จะมีคลอโรพลาสต์และนิวเคลียสเป็นจำนวนมากอยู่ภายใน และมีขนเป็นจำนวนมากอยู่ภายนอก จัดว่าเป็น compound zoospore เมื่อ zoospore ออกมาจาก sporangium แล้วงอกเป็นสายเซลล์ใหม่ต่อไป

2. Vaucheria พวกที่อยู่ตามดินแฉะ ๆ อาจจะสร้างสปอร์ที่ไม่มีเพศ (asexual spore) ขึ้นมาตามวิธีการข้อ 1 แต่สปอร์นั้นไม่มีขน

3. Vaucheria ที่อยู่ตามดินบางพวกอาจจะสร้างสปอร์ซึ่งแตกต่างจาก 2 พวกแรก คือ โปรโตพลาสท์ที่อยู่ภายใน sporangium แบ่งตัวออกเป็นก้อนเล็ก ๆ เป็นจำนวนมาก แต่ละก้อนจะสร้างผนังเซลล์หุ้มก่อนโปรโตพลาสท์เล็ก ๆ นั้นแล้วเปลี่ยนสภาพเป็นสปอร์ ซึ่งสปอร์ชนิดนี้มีชีวิตพักอยู่ได้นาน

การสืบพันธุ์แบบมีเพศ มีวิธีเดียวคือ Oogamy

สายเซลล์ของ Vaucheria จะสร้าง antheridium ขึ้นมามีลักษณะเป็นกิ่งงอ ๆ สั้น ๆ คล้ายตะขอ (hook-shaped) ยื่นออกไปจากสายเซลล์ พร้อมทั้งมีผนังมาตัดขวางด้วย ภายใน antheridium มี sperm จำนวนมาก แต่ละตัวมี flagellum 2 เส้น และจะออกมาจาก antheridium ทางช่องตอนปลายของ antheridium

ส่วน oogonium นั้นมีรูปร่างกลมขนาดใหญ่กว่า antheridium ภายในมี egg อยู่ 1 ใบและมีอาหารเก็บไว้มาก เมื่อ oogonium เจริญเต็มที่ก็จะเปิดเป็นช่องให้ sperm เข้าไปภายใน ภายในหลังจากที่เกิด fertilization แล้ว ไส้โกด ก็เปลี่ยนเป็น oospore หยุดพักอยู่หลายเดือนจึงงอกเป็นสายเซลล์ใหม่ โดยนิวเคลียสของ oospore จะแบ่งตัวแบบลดจำนวนโครโมโซมเสียก่อน

Diatom (Class Bacillariophyceae)

เป็นสาหร่ายที่มีอยู่ทั่วไปทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม มีทั้งที่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ หรือเป็นสายก็มี บางชนิดก็รวมกันเป็นโคโลนี มีรูปร่างแปลก ๆ ต่าง ๆ กัน บ้างก็มีรูปร่างคล้ายเรือ ที่มีรูปร่างเป็นท่อน ๆ ก็มี รูปร่างคล้ายจาน รูปร่างคล้ายลิ้ม หรือสามเหลี่ยม เป็นต้น มีประมาณ 190 genera 5,000 species เนื่องจาก diatom เป็นสาหร่ายที่มีจำนวนมากหลายพัน species และรูปร่างก็มีหลายแบบ โครงสร้างก็แตกต่างจากสาหร่ายชนิดอื่น ๆ ดังนั้น วิชาการที่เกี่ยวกับ diatom จึงเรียกว่า Diatomology

เซลล์ของ diatom มีผนังเซลล์เป็นฝา 2 ฝา ซึ่งสวมกันได้พอดีเหมือนฝาของ petridish เราเรียกฝาแต่ละฝาว่า frustule ผนังเซลล์ประกอบด้วยสารพวก pectin และมีพวก silica ประมาณ 95% ผสมอยู่ ทำให้มีรูปลักษณะแตกต่างจากสาหร่ายใน Class อื่น ๆ โดย Silica จะทำให้เกิดลวดลายต่าง ๆ บนผนังเซลล์สวยงามมาก เซลล์มีลักษณะใสและแตกง่าย ไม่น่าเปื่อย ถึงแม้โปรโตพลาสที่อยู๋ภายในเซลล์จะตายไปแล้วก็ตาม โปรโตพลาสที่มีรงควัตถุสีเหลืองปนวัตถุสีน้ำตาล แต่บางชนิดก็จะมีสีเขียว หรือน้ำเงิน รงควัตถุเหล่านี้จะอยู่ในไซโตพลาสซึม ซึ่งอยู๋ภายในผนังเซลล์ มีนิวเคลียส 1 อัน และมีแวคิวโอลอยุ่กึ่งกลางเซลล์ อาหารที่เก็บไว้เป็นพวก fat และ volutin (สารที่ไมละลายน้ำยังไม่มีใครทราบถึงองค์ประกอบทางเคมี)

diatom ส่วนมากที่พบในน้ำจืดมักมีรูปร่างยาวคล้ายเรือ ทางด้านหนึ่งเรียกว่า Top หรือ valve veiv จะมีช่องยาวตลอดเซลล์อยู่บนผนังเรียกว่า raphe ส่วนอีกด้านหนึ่งเรียก side หรือ girdle veiv จะมีรอยแสดงให้เห็นฝา 1 ฝาซ้อนกันอย่างเหมาะสม diatom อาจจะเคลื่อนที่ได้โดย cytoplasmic streaming ที่อยู๋ภายในเซลล์

การสืบพันธุ์

แบบไม่มีเพศ

diatom มีการสืบพันธุ์โดยการแบ่งเซลล์ ซึ่งวิธีการแบ่งเซลล์ของ diatom ไม่เหมือนกับสาหร่ายชนิดอื่น ๆ เนื่องจากเซลล์ของ diatom ประกอบด้วยฝา 2 อันปิดครอบกันไว้ เมื่อเกิดการแบ่งเซลล์ ฝา 2 ฝานี้จะแยกออกกลายเป็นเซลล์ใหม่ 2 เซลล์ เซลล์ใหม่เซลล์หนึ่งจะได้ฝาด้านล่างไป ส่วนเซลล์ใหม่อีกเซลล์หนึ่งจะได้ฝาด้านบนไปแล้วเซลล์ใหม่ทั้ง 2 นี้จะสร้างฝาใหม่ขึ้นมาภายในฝาด้านเดิม ด้วยเหตุผลนี้เองเซลล์ใหม่อันหนึ่งจะมีขนาดเท่าเซลล์แม่ ส่วนอีกเซลล์หนึ่งจะมีขนาดเล็กกว่าเซลล์เดิมหนึ่งเซลล์ และเซลล์ใหม่ที่มีขนาดเล็กก็จะต้องแบ่งได้เซลล์ใหม่ที่เล็กลงไปทุกที ๆ เซลล์ที่มีขนาดเล็กที่สุดอาจจะตายไปหรือเปลี่ยนเป็นสปอร์เพื่อที่จะเกิดเป็นเซลล์ใหญ่ต่อไปก็ได้ ในบาง species นั้นผนังเซลล์อันเล็กก็สามารถเพิ่มขนาดใหญ่อขึ้นได้เพื่อให้ขนาดรูปร่างของเซลล์คงที่

แบบมีเพศ

อาจจะเกิดขึ้นได้ในบาง species โดย protoplast จะไหลออกมาจากฝากลายเป็น gamete ชนิด isogamete เมื่อ conjugate กันแล้วไซโกตก็เปลี่ยนเป็นสปอร์ต่อไป สปอร์ของ diatom เรียกว่า auxospore แล้วก็จะเปลี่ยนแปลงเป็น diatom ที่มีขนาดเท่าเดิม

พวก diatom ที่อยู่ในน้ำทะเลมักจะมี flagellum และ gamete ของมันก็มี flagellum ด้วย diatom บางชนิดจะสร้างผนังหนาเพื่อหยุดพัก บาง species จะไม่สร้างเซลล์ใหม่โดยการแบ่งเซลล์ ถ้าน้ำที่มันอาศัยอยู่ไม่ธาตุ silica

4.6 Rhodophyta (red algae)

สาหร่ายพวกนี้มีชื่อที่เรียกกันทั่ว ๆ ไปว่า sea moss มีสีแดงสดบ้าง แดงคล้ำบ้างจนถึงเกือบเป็นสีม่วง เพราะมีรงควัตถุหลายชนิด คือ คลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ ดี แคโรทีนอยด์ และไฟโคบิลิน (phycobilin) สำหรับไฟโคบิลินจะประกอบด้วยรงควัตถุสีแดงของ phycoerythrin และสีน้ำเงินของ phycocyanin การที่เห็นสาหร่ายชนิดนี้มีสีแดงสด แดงคล้ำ และสีต่าง ๆ ก็เนื่องมาจากสัดส่วนของรงควัตถุเหล่านี้

ขนาด

ไม่ใหญ่เท่าสาหร่ายสีน้ำตาล แต่อาจจะยาวถึง 3 ฟุตก็มี ส่วนใหญ่จะอยู่ในน้ำทะเล ที่อยู่ในน้ำจืดมีเพียง 1 หรือ 2 สกุลเท่านั้น สามารถอยู่ใต้ทะเลในน้ำลึกกว่า 120 เมตรได้ และยังสามารถสังเคราะห์แสงได้ในน้ำทะเลลึก ๆ ทั้งนี้เนื่องมาจากรงควัตถุชนิด phycoerythrin นั่นเอง

รูปร่าง

ทลัสส์ของสาหร่ายสีแดงประกอบด้วยเซลล์หลายเซลล์ ทำให้รูปร่างต่าง ๆ กัน ดังนี้

1. รูปทรงกระบอก เช่น Nemaion
2. มีลักษณะเป็นแผ่นหรือคล้ายริบบิ้น เช่น Rhodynemia
3. แตกกิ่งก้านคล้ายขนนก เช่น Gelidium
4. ตอนปลายทลัสส์แตกเป็น dichotomus เช่น Chondrus
5. มีสารพวกแคลเซียมมาพอก ทำให้ทลัสส์แข็งและเปราะ เช่น Jania

โครงสร้าง

แต่ละเซลล์ที่มาประกอบเป็นทลัสส์นั้นจะมีผนังเซลล์ที่ประกอบด้วยเซลลูโลสและเพคติน ไซโตพลาสซึมอยู่ได้ผนังเซลล์เป็นชั้นบาง ๆ และอยู่รอบ central vacuole มีนิวเคลียส 1 อัน แต่ก็มีบางชนิดที่เซลล์มีขนาดใหญ่ ซึ่งเซลล์เหล่านี้แต่ละเซลล์ก็จะมีนิวเคลียสจำนวนมาก ที่ผนังเซลล์มี pit หลายช่องทำให้โปรโตพลาสท์ของเซลล์ที่อยู่ใกล้เคียงกันมีการติดต่อกันด้วย protoplasmic strand ภายในเซลล์มี plastid เป็นจำนวนมาก และสาหร่ายสีแดงบางชนิดอาจจะมี pyrenoid อยู่ภายใน plastid ด้วย อาหารที่สาหร่ายพวกนี้เก็บสะสมไว้ในเซลล์เป็นแป้งชนิดหนึ่งมีชื่อว่า floridean starch เข้าใจว่าเป็นสารประกอบระหว่าง starch และ dextrose ซึ่งไม่ละลายน้ำ คุณสมบัติพิเศษของสาหร่ายสีแดงอีกประการหนึ่งก็คือ สามารถสร้างเกลือแคลเซียมได้เป็นจำนวนมาก

ความเป็นอยู่ของสาหร่ายสีแดงก็มีหลายแบบ บางชนิดเกาะอยู่กับก้อนหินอยู่เป็นกลุ่มบางชนิดเป็น epiphyte โดยเจริญเติบโตอยู่บนสาหร่ายชนิดอื่น ๆ บางชนิดเป็น endophyte บางชนิดก็เป็น parasite บางชนิดอยู่ใต้ทะเลลึกถึง 600 ฟุตก็มี

การสืบพันธุ์ของพวกสาหร่ายสีแดงมีความสลับซับซ้อนมากกว่าสาหร่ายชนิดอื่น ๆ ลักษณะที่สำคัญของพวกนี้ก็คือไม่มีเซลล์สืบพันธุ์ ที่มี flagellum (flagelled reproductive cell) ไม่ว่าจะเป็นการสืบพันธุ์แบบมีเพศหรือไม่มีเพศก็ตาม แต่ส่วนมากแล้วจะเป็นการสืบพันธุ์แบบมีเพศทั้งสิ้น

การสืบพันธุ์แบบมีเพศของสาหร่ายสีแดงซับซ้อนมาก เพราะประกอบด้วยระยะต่าง ๆ ถึง 3 ระยะด้วยกัน จึงจะครบวงจรชีวิตของมัน ระยะต่าง ๆ นั้นก็คือ

1. ระยะการสืบพันธุ์แบบมีเพศที่มีโครโมโซม 1 ชุด ให้กำเนิดอวัยวะสืบพันธุ์
2. ระยะที่ผลิต spore มีโครโมโซม 2 ชุด
3. ระยะที่ผลิต spore มีโครโมโซม 1 ชุด

การสืบพันธุ์ของสาหร่ายสีเขียวแกมมาตามระยะต่าง ๆ เหล่านี้ศึกษาได้จาก polysiphonia และ thamnion

Polysiphonia

เป็น heterothallic คือมีต้นที่เป็น male gametophyte และ female gametophyte ซึ่งมีโครโมโซม 1 ชุด ต้นตัวผู้ให้กำเนิด gametangium เรียก antheridium ซึ่งจะเกิดรวมกันเป็นกลุ่มอยู่บนกิ่ง ต้นตัวเมียจะสร้าง gametangium เรียก carpogonium อยู่บนกิ่งโดยจะมี trichogynes ยื่นยาวออกไปบนยอดของ carpogonium sperm เรียก spermatium ลอยตามกระแส น้ำมายัง trichogyne แล้วนิวเคลียสของ sperm ก็จะเข้าไปใน trichogyne ลงไปยัง carpogonium ซึ่งมี egg อยู่ ภายหลังจากที่เกิด fertilization แล้วไซโกตจะแบ่งตัวหลายครั้งแล้วงอกสายเซลล์ออกมาหลายสาย สายเซลล์เหล่านี้จะสร้าง cystocarp ขึ้นมาซึ่งยังคงอยู่ในต้นตัวเมีย ต่อมา cystocarp ก็จะสร้างสปอร์ขึ้นเรียก carpospore เมื่อ carpospore หล่นออกมาจาก cystocarp แล้วก็จะงอกเป็นต้นพืชใหม่ที่มีลักษณะเหมือนต้นเดิม แต่มีโครโมโซม 2 ชุด เป็น diploid plant แล้วต้นพืชใหม่นี้จะสร้าง sporangium ซึ่งภายในมีสปอร์ 4 อัน เรียกสปอร์นี้ว่า tetraspore (เป็น haploid spore) sporangium นี้จะเกิดตรงกลางเซลล์เมื่อ tetraspore หลุดออกมาแล้วก็จะงอกเป็นต้นพืช polysiphonia ซึ่งจะกำเนิด antheridium และ carpogonium ต่อไป จะเห็นได้ว่าวงจรชีวิตของ Polysiphonia ประกอบด้วยระยะต่าง ๆ 3 แบบด้วยกัน คือ ระยะแรกเป็น haploid plant หรือ gametophyte ซึ่งให้กำเนิด sex organs ระยะที่ 2 ก็คือ diploid zygote จนถึง diploid carpospore ระยะที่ 3 เป็น diploid plant ซึ่งผลิต haploid tetraspore ในระหว่างการผลิต tetraspore นั้นจะมีการลดจำนวน chromosome ด้วย

4.7 Division Charophyta (stoneworts)

เป็นสาหร่ายสีเขียวมีลักษณะคล้ายพืชชั้นสูง รังควาญและอาหารสะสมเป็นเช่นกับที่พบในสาหร่ายสีเขียวอื่น ๆ ในการสืบพันธุ์จะสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ที่มีลักษณะพิเศษไม่เหมือนพืชอื่น ๆ

การจำแนกหมวดหมู่มีเพียงคลาสเดียวและอันดับเดียว มี 4 ครอบครัว (Family) 3 ครอบครัวเป็นสาหร่ายดึกดำบรรพ์ มีครอบครัวเดียวที่เหลืออยู่ในปัจจุบัน

Class	Charophyceae
Order	Charales
Family	Characeae

ในครอบครัวนี้ที่พบมี 4 สกุล ดังนี้

Chara, Nitellopsis, Tolypella, Nitella

4.8 Division Pyrrhophyta (dinoflagellates)

พวกไดโนแฟลกเจลเลตมีมากกว่า 1,000 ชนิดพบในแหล่งน้ำทั้งน้ำจืด, น้ำกร่อย, น้ำเค็ม ในลักษณะเป็นแพลงก์ตอน นอกจากนี้ยังเป็นปรสิต (parasite) ของปลา บางชนิดเป็นตัวทำให้เกิดน้ำแดง (red tide) ในทะเล ซึ่งเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำและต่อมนุษย์ที่บริโภคสัตว์น้ำนั้น ๆ ไดโนแฟลกเจลเลตที่เป็นอาหารของหอยได้แก่ สกุล *Gonyaulax* เมื่อมีการ (bloom) ทำให้เกิดน้ำแดงจะสะสมอยู่ในหอย เพื่อนำหอยไปรับประทานก็จะทำให้เกิดอาการชาตามลิ้น ริมฝีปาก และส่วนอื่น ๆ ของร่างกายทำให้เป็นอัมพาตและถึงแก่ชีวิตได้ ภายใน 12 ชั่วโมงเนื่องจากหายใจไม่ออก

สาหร่ายใน Division นี้ได้แก่ *Gonyaulax* , *Peridinium*, *Ceratium*, *Pyrocystis*, *Prorocentrum*

4.9 Division Cryptophyta (Cryptomonads)

เป็นดิวิชันเล็ก ๆ อาจรวมเข้าไว้ใน Division Pyrrophyta สาหร่ายดิวิชันนี้ เซลล์มีลักษณะแบนจากบนลงล่างไม่มีผนังเซลล์ มีแต่เยื่อ periplast หนวดมี 2 เส้นบางชนิดมีคลอโรพลาสต์บางชนิดไม่มี

แหล่งที่พบในน้ำจืดและน้ำเค็ม สาหร่ายในดิวิชันนี้มีส่วนทำให้เกิดกระแสน้ำแดง (red tide) เมื่อมีการบูมเกิดขึ้น สาหร่ายใน Division นี้ได้แก่ *Cryptomonas*, *Chroomonas*, *Nephroselmis*

บทที่ 5

หลักการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

การเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียว หรือเป็นกลุ่มเซลล์ (โคโลนี) หรือชนิดเป็นเส้นที่เรียกว่า Filamentous algae เพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน หรือผลิตเป็นอุตสาหกรรมนั้น ในปัจจุบันนี้การเลี้ยงได้รับการพัฒนาจนเจริญก้าวหน้าไปมาก เนื่องจากปริมาณสัตว์น้ำที่จับได้ไม่พอเพียงสำหรับการบริโภคทำให้ประชาชนหันมาสนใจการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมากขึ้น ปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีหลายประการ อาหารนับเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งในการเลี้ยงสัตว์น้ำโดยเฉพาะในวัยวัยอ่อน ชนิดสาหร่ายก็เป็นปัจจัยหนึ่งซึ่งต้องเลือกสรรให้เหมาะสมกับขนาดและชนิดของสัตว์น้ำที่เลี้ยง ดังนั้น ก่อนที่ผู้เลี้ยงจะเริ่มลงมือเลี้ยงสาหร่ายเพื่ออนุบาลลูกสัตว์น้ำควรศึกษาหาความรู้ที่เกี่ยวข้องกับสาหร่ายให้เข้าใจเสียก่อนเพื่อที่จะได้ประสบความสำเร็จและได้ผลคุ้มค่ากับการลงทุน เรื่องที่ควรคำนึงถึงในการเลี้ยงสาหร่ายมีดังต่อไปนี้

5.1 ระยะเวลาของการเลี้ยง

แบ่งเป็น 2 ประเภท

1. การเลี้ยงระยะยาว (Long term culture)

2. การเลี้ยงระยะสั้น (Short term culture)

1. การเลี้ยงระยะยาว (Long term culture)

วัตถุประสงค์ของการเลี้ยงประเภทนี้ ข้อแรกคือ เพื่อเก็บหัวเชื้อสาหร่าย (stock culture) ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้สำหรับการเพาะครั้งต่อไป ฉะนั้นสารอาหาร (media) ที่ใช้ควรเป็นชนิดที่สามารถเลี้ยงสาหร่ายให้มีคุณภาพดีได้นาน ตั้งแต่ 3 เดือนจนถึง 1 ปีโดยที่ไม่ต้องมีการถ่ายเชื้อ (subculture)

ปัจจัยที่ควรคำนึงมากที่สุดคือรูปแบบของอาหาร อาหารที่เหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับการเลี้ยงประเภทนี้คืออาหารวุ้น (nutrient agar) เช่น อาหารวุ้นของโบลด์ (Bold's basic agar) ซึ่งมีการเติมโปรตีนไฮสเฟปโตน ทำให้สามารถเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวได้ดี หรือใช้อาหารวุ้นสูตรปรับปรุงของอัลเลน (Allen's modified agar) ซึ่งใช้เลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินได้หลายชนิด ข้อเสียเพียงอย่างเดียวสำหรับอาหารวุ้นก็คือ การเลี้ยงต้องเป็นการเลี้ยงแบบปลอดเชื้อ (axenic culture) สำหรับสาหร่ายชนิดที่เลี้ยงด้วยอาหารวุ้นไม่ได้ อาจมีการปรับเปลี่ยนหรือเพิ่มเติมอาหารวุ้นเล็กน้อย เช่น เติมน้ำ (จืดหรือทะเล) บนอาหารวุ้นให้มีปริมาณเพียงพอที่สาหร่ายจะเติบโต ส่วนอาหารอื่นที่ใช้ได้นอกจากอาหารวุ้นก็คือสารละลายที่เตรียมจากดิน (soil-water medium) ซึ่งเหมาะสำหรับการเลี้ยงระยะยาว ใช้ได้ทั้งชนิดที่เตรียมจากดินล้วน ๆ หรือชนิดที่เติมสารอื่นลงไปด้วย นอกจากปัจจัยเรื่องอาหารแล้ว ปัจจัยอื่นที่ควรคำนึงอีกคืออุณหภูมิ โดยอุณหภูมิในห้องเลี้ยงควรลด ต่ำลงจากปกติ 5-8°C และลดความเข้มแสงลงจากปกติครึ่งหนึ่ง ทั้งนี้เพื่อลดการเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยง วัตถุประสงค์ข้อที่สองของการเลี้ยงระยะยาวคือเพื่อผลิตเป็นอุตสาหกรรม ซึ่งแบ่งประเภทการเลี้ยงได้อีก 2 ประเภท ดังนี้

ก. การเลี้ยงประเภทเก็บเกี่ยวครั้งเดียว (Batch culture) หมายถึงการเลี้ยงที่เก็บผลผลิตครั้งเดียวหมดเลยเป็นการเลี้ยงที่จะได้ผลผลิตที่สะอาดเหมาะสมสำหรับเป็นอาหารมนุษย์ เช่น การเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina* sp.) โดยเริ่มจากการเลี้ยงจำนวนน้อยในห้องปฏิบัติการก่อนแล้วจึงถ่ายลงในภาชนะใหญ่ขึ้นเป็นลำดับเช่นเลี้ยงในขวดแก้วก่อนถ่ายลงในถังเมื่อขยายพันธุ์ได้มากแล้วจึงเปลี่ยนลงบ่อเล็กและบ่อใหญ่ตามลำดับ

ข. การเลี้ยงประเภทต่อเนื่อง (Continuous culture) หมายถึงการเลี้ยงที่เก็บผลผลิตเพียงบางส่วนเพื่อให้ส่วนที่เหลือเจริญเติบโตต่อไปและทยอยเก็บเป็นระยะ ค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงประเภทนี้ต่ำกว่าประเภทแรกแต่ผลผลิตที่ได้จะไม่สะอาดเท่าประเภทแรก

2. การเลี้ยงระยะสั้น (Short term culture)

เป็นประเภทการเลี้ยงเหมาะสมสำหรับการศึกษาในห้องเรียนเป็นครั้งคราวหรือทำเป็นอุตสาหกรรมระยะสั้น นิยมใช้อาหารแตกต่างกันไปตามความเหมาะสม เช่น ถ้าต้องการศึกษารูปร่างลักษณะ (morphology) ของสาหร่ายควรเลือกใช้สูตรอาหารสารละลายจากดิน (soil-water medium) และสูตรอาหารปลาป่น (fish meal medium) ถ้าต้องการศึกษาสรีระ ของสาหร่ายสูตรอาหารที่ควรใช้ได้แก่สูตรอาหารของโบลด์ (Boil's basal medium) แต่ถ้าต้องการศึกษาทดลองทางด้านสรีระ ควรเลือกสูตรอาหารที่มีการเสริมธาตุอาหารซึ่งช่วยให้มีการเจริญเติบโตเร็วที่เรียกว่า enriched medium แต่อาหารแบบนี้จะทำให้รูปร่างของสาหร่ายเปลี่ยนแปลงไปบ้าง

เมื่อต้องการนำสาหร่ายไปใช้เพื่อการเรียนการสอนควรเตรียมการล่วงหน้า คือก่อนการสอน 3-4 สัปดาห์ ควรทำการถ่ายเชื้อ (subculture) จากสต็อกสาหร่ายไปเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสมแก่การเลี้ยงช่วงสั้นตามชนิดของสาหร่าย ที่ต้องการใช้และทำการถ่ายเชื้ออีกครั้งประมาณ 1 สัปดาห์ก่อนการนำไปใช้

5.2 รูปแบบของการเพาะเลี้ยง

แบ่งตามความบริสุทธิ์ของสาหร่ายที่เลี้ยงได้ 3 แบบ คือ

1. Unialgal culture เป็นการเลี้ยงสาหร่ายเพียงชนิดเดียวไม่มีสาหร่ายอื่นปน แต่อาจมีสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นปนได้ เช่น แบคทีเรีย โปรโตซัว
2. Axenic culture เป็นการเลี้ยงสาหร่ายชนิดเดียวหรือหลายชนิดก็ได้ แต่ต้องไม่มีแบคทีเรียปนอยู่เลยฉะนั้นจึงเรียกการเลี้ยงแบบนี้อีกชื่อหนึ่งว่า bacteria free culture
3. Pure culture เป็นการเลี้ยงสาหร่ายชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้น โดยที่ไม่มีสิ่งมีชีวิตอื่นปนอยู่เลย

5.3 อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงสาหร่าย

โดยทั่วไปแบ่งออกได้ 2 รูปแบบ ดังนี้

1. อาหารเหลว (Liquid media)
2. อาหารแข็งหรืออาหารวุ้น (Solid or agar media)

นอกจากนี้ยังมีอาหารชนิดพิเศษตามความต้องการ เช่น Semisolid media ซึ่งเป็นอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว ทำได้โดยใส่วุ้นลงไปน้อย ๆ เช่น 0.5% เพื่อใช้ทดสอบการเกิดแก๊ส ถ้าเกิดแก๊สจะเห็นเป็นฟองอากาศที่ผิวหน้าอาหาร differential media เป็นอาหารที่ใช้เพาะเชื้อแล้วเห็นความแตกต่างของเชื้อที่ขึ้นได้ชัด จึงนิยมใช้ในงานจุลชีววิทยา selective media เป็นอาหารที่คัดเลือกชนิด ฉะนั้นจึงมีสาหร่ายบางชนิดเท่านั้นที่ขึ้นได้ enrichment media เป็นอาหารที่เกื้อหนุนให้สาหร่ายบางอย่างเจริญดีกว่าสาหร่ายอื่น ๆ ทำให้สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ของสาหร่ายชนิดที่ต้องการได้ complete media เป็นอาหารที่นำมาจากธรรมชาติโดยไม่รู้สัดส่วนที่แน่นอน เช่น น้ำซุปล้นฝรั่ง เป็นต้น synthetic media เป็นอาหารที่ทราบส่วนประกอบทุกอย่างทั้งปริมาณและคุณภาพจึงสามารถสร้างหรือสังเคราะห์อาหารนี้เมื่อไรก็ได้

อย่างไรก็ดีในงานเพาะเลี้ยงสาหร่ายทั่วไปผู้เลี้ยงควรทำความรู้จักคุ้นเคยกับอาหารเพียง 2 แบบเท่านั้น ดังจะได้กล่าวถึงวิธีเตรียมดังต่อไปนี้

1. อาหารเหลว (Liquid media)

การเตรียมอาหารเหลวสิ่งแรกที่ต้องคำนึงคือ น้ำ น้ำจืดที่เหมาะสมควรเป็นน้ำธรรมชาติที่เก็บในที่มืดอุณหภูมิประมาณ 5°C นาน 6 เดือน หรือน้ำที่กรองด้วยผงถ่านที่เรียกว่า activated charcoal (ดูวิธีการเตรียมหน้า 4)

กล่าวโดยทั่วไป สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายจะประกอบด้วยธาตุอาหาร 2 ประเภท โดยอาศัยปริมาณที่พืชต้องการใช้เพื่อการเจริญเติบโต ดังนี้

(1) ธาตุอาหารหลัก (Macronutrients) ประกอบด้วยธาตุอาหารที่สาหร่ายทุกชนิดต้องการใช้ปริมาณมากเพื่อการเจริญเติบโต ได้แก่ คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ โพแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม

(2) ธาตุอาหารรอง (Micronutrients) ประกอบด้วยธาตุอาหารที่พืชต้องการใช้ปริมาณค่อนข้างน้อย ซึ่งเมื่อเติมลงในอาหารจะช่วยให้สาหร่ายเจริญเติบโตดีขึ้น ถ้าไม่ใช้การเจริญเติบโตจะช้าลงเล็กน้อย แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อยคือ

ก. ธาตุอาหารรองอนินทรีย์ (Inorganic micronutrients) ธาตุอาหารรองอนินทรีย์ที่สาหร่ายส่วนมากต้องการใช้ ได้แก่ เหล็ก แมงกานีส แคลเซียม สังกะสี ทองแดง โคบอลต์ และโบรอน ส่วนธาตุต่อไปนี้สาหร่ายบางกลุ่มต้องการบางกลุ่มไม่ต้องการ เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินต้องการโซเดียม ไดอะตอมต้องการซิลิกา เป็นต้น

ข. ธาตุอาหารรองอินทรีย์ (Organic micronutrients) ประกอบด้วยสารประกอบอินทรีย์แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

(1) คาร์โบไฮเดรต เช่น น้ำตาลเดกซ์โตรส เข้มข้น 0.2-0.5% ควรเติมหลังจากการฆ่าเชื้อแล้ว เพราะมิฉะนั้นน้ำตาลจะสลายตัว

(2) กรดอินทรีย์หรือสารประกอบที่มีกรดอินทรีย์อยู่ด้วย ได้แก่ กรด อะซิเตทต่าง ๆ นิยมใช้ความเข้มข้น 0.1-0.5% อยู่ในรูปของธาตุโซเดียม โพแทสเซียม

(3) วิตามิน ได้แก่ วิตามิน 3 ชนิด คือ บี 1 บี 12 และบีรวม นิยมเติมในอาหารหลังจากผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

(4) ปัจจัยที่ควบคุมการเจริญเติบโต (Growth factor) เป็นอาหารเสริมที่ใช้เติมในอาหารเลี้ยงสาหร่ายทะเล โดยเฉพาะชนิดที่ขึ้นอยู่ตามพื้น ที่นิยมใช้ได้แก่ adenin และ kinetin ซึ่งละลายในน้ำได้เล็กน้อยแต่ละลายได้ดีในโซเดียมไบคาร์บอเนต gibberellic acid ละลายน้ำได้ดี และ indol acetic acid (IAA) มีคุณสมบัติละลายได้เล็กน้อยในน้ำร้อน และ ละลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกแสง

ถ้ายังไม่ใช้อาหารควรเก็บไว้ในตู้เย็น โดยห่อภาชนะด้วยกระดาษตะกั่วเพื่อมิให้ถูกแสงสว่าง

2. อาหารแข็งหรืออาหารวุ้น (Solid or Agar media)

ทำโดยเตรียมอาหารเหลวที่ใช้เพาะเลี้ยงก่อนแล้วเติมวุ้นลงไป 1.5% วุ้นที่ใช้ควรเป็นวุ้นที่ค่อนข้างบริสุทธิ์ที่ เรียกว่า bacto-agar หากใช้วุ้นทำขนม อาหารที่ทำสำเร็จแล้วจะไม่แข็งดีพอกับความ ต้องการและจะทำให้มีน้ำแยกตัวออกมาจากอาหารทำให้ใช้ไม่สะดวก ปริมาณของวุ้นที่ใช้อาจมากหรือน้อยกว่า กำหนดได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการต้องการของผู้ใช้ เช่นถ้าต้องการแยกเชื้อสาหร่ายควรเตรียมอาหารให้แข็งสัก หน่อยเพื่อเวลาเขียนจะได้ไม่ติดวุ้น หรือถ้าต้องการทำอาหารแบบเอียง (slant agar) เพื่อเพิ่มพื้นที่วุ้นใน หลอดแก้วให้มากควรใส่วุ้นให้น้อยลงประมาณ 1-1.5% ปริมาณอาหารวุ้นในหลอดควรเท่ากับ 1/3 ของ หลอดแก้ว ถ้าเตรียมอาหารวุ้นในจานแก้วควรใช้วุ้น 1.5-2% ส่วนปริมาณอาหารวุ้นที่เทในแต่ละจานแล้วแต่ ลักษณะงานที่จะทำ เช่น ถ้าเป็นการเพาะเลี้ยงเพื่อดูผลในเวลาอันสั้น ควรเทวุ้นให้หนาประมาณ 0.5 เซนติเมตร ถ้าหากใช้เวลาเพาะเลี้ยงนานก็ต้องเทอาหารให้มากสักหน่อย เป็นต้น

อาหารวุ้นมักเตรียมใส่ขวดกลมหรือแบนก็ได้ ปริมาตรอาหารมักจะอยู่ในราวครึ่งหนึ่งของภาชนะ ที่ใส่อาหาร ถ้ายังไม่ใช้ควรห่อภาชนะด้วยกระดาษตะกั่วแล้วเก็บไว้ในตู้เย็น เมื่อต้องการใช้ให้นำอาหารออกมา หลอมให้ละลายด้วยหม้อนึ่งความดันเพราะใช้เวลาในการหลอมน้อย ข้อดีอีกอย่างหนึ่งก็คือจะช่วยลดเชื้อโรคที่ อาจปนอยู่ในอาหารได้ด้วย เวลาที่ใช้หลอมอาหารโดยทั่วไปอยู่ระหว่าง 10-15 นาทีที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อ ตารางนิ้ว ถ้าหลอมด้วยหม้อนึ่งธรรมดาจะมีผลต่อยกกว่าหม้อนึ่งความดันคือเพียงแต่ช่วยลดเชื้อโรคที่ติดอยู่ด้าน นอกขวดเท่านั้น ข้อควรระวังในการหลอมอาหารก็คือ ไม่ควรใส่น้ำสูงจนท่วมระดับวุ้นในขวด เพราะจะทำให้ น้ำซึมไปเปียกจุลกลีที่ติดภาชนะและน้ำจะถูกดูดซึมเข้าไปในขวดอาหารได้ การเทอาหารรอให้อาหารเย็นลง จนถึงอุณหภูมิประมาณ 45-50°C หรือสังเกตได้จากการใช้หลังมือแตะภาชนะ ถ้ารู้สึกอุ่น ๆ พอทนได้ก็ เป็นอันว่าใช้ได้ โดยทั่วไปขวดอาหารที่มีความจุ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร เทอาหารได้ 6-7 จาน หรือจาน หนึ่งจุอาหารได้ประมาณ 15 ลูกบาศก์เซนติเมตร ควรเทอาหารบนจานเล็กและใช้จานใหญ่ครอบจานอาหาร อีกที

หลักเกณฑ์ในการเลือกใช้ชนิดอาหาร

มีหลักอยู่ว่าถ้าเป็นสาหร่ายชนิดมีหนวด ควรใช้อาหารเหลวและควรทำการถ่ายเชื้อทุก 3-4 เดือน พวกสาหร่ายที่เป็นเส้นหรือ สาหร่ายเซลล์เดียวก็สามารถเลี้ยงด้วยอาหารเหลวเช่นเดียวกัน แต่ควรทำการถ่าย เชื้อทุก 6 เดือนถึง 1 ปี ส่วนอาหารแข็งหรืออาหารวุ้นนั้นนิยมใช้เมื่อต้องการทำ stock หรือเมื่อต้องการแยก เชื้อ (isolate) สาหร่าย

5.4 น้ำที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย

แบ่งออกได้ 2 ชนิด คือ

1. น้ำจืด

โดยทั่วไปนิยมใช้น้ำกรองที่ตั้งทิ้งไว้ชั่วระยะหนึ่ง แต่จะใช้น้ำกลั่น น้ำบาดาล หรือน้ำชนิดใดก็ได้ที่ปลอดภัยจากวัตถุมิพิษ วิธีเตรียมน้ำสำหรับเลี้ยงสาหร่ายที่ดีอีกวิธีหนึ่งคือ การกรองเพื่อกำจัดสิ่งเจือปนมากับน้ำ โดยการกรองด้วยถ่าน (activated charcoal) ในอัตราส่วน ถ่าน 2 กรัม ต่อน้ำ 1 ลิตร เขย่าให้เข้ากันนาน 1 ชั่วโมง แล้วกรอง ถ้าจะให้ได้ดีมากขึ้นให้กรองน้ำด้วยเครื่องกรองระบบดีไอไอแล้วกรองด้วยผงถ่านอีกครั้งหนึ่ง ซึ่งน้ำที่กรองด้วยวิธีนี้สามารถนำไปใช้ได้ทันทีโดยไม่ต้องตั้งทิ้งไว้ โดยทั่วไปไม่นิยมใช้น้ำประปาเนื่องจากมีคลอรีน

2. น้ำทะเล

ถ้าใช้น้ำทะเลธรรมชาติควรตั้งทิ้งไว้สักระยะหนึ่ง อาจทิ้งไว้นาน 6 เดือน ถ้าเก็บไว้ในที่มีอุณหภูมิต่ำด้วยจะได้ผลดีมากยิ่งขึ้น ในกรณีที่ผู้เลี้ยงไม่สามารถนำน้ำทะเลธรรมชาติมาเลี้ยงสาหร่ายจะใช้น้ำทะเลเทียมแทนก็ได้แต่ผลที่ได้จะไม่ดีเท่ากับน้ำทะเลธรรมชาติไม่ว่าจะใช้สูตรเตรียมน้ำทะเลเทียมสูตรใดก็ตาม

ในกรณีที่ใช้น้ำทะเลธรรมชาติควรผสมธาตุอาหารที่พืชต้องการใช้เพื่อการเจริญเติบโต ธาตุอาหารที่ใช้ต้องมีทั้งอินทรีย์สารและอนินทรีย์สารที่สำคัญ เช่น เกลือไนเตรตและฟอสเฟตของโซเดียมและโปแตสเซียม น้ำสกัดจากดิน (soil extract) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสารประกอบที่เป็นปัจจัยในการเจริญเติบโตซึ่งพืชต้องการใช้ในปริมาณเล็กน้อย เช่น เหล็ก แมกนีเซียม ซิลิกา เป็นต้น สูตรส่วนผสมที่เติมลงไปเพื่อเพิ่มอาหารลงในน้ำทะเลมีหลายสูตรด้วยกัน สุณีย์ (2523) ได้ศึกษาเอกสารและได้ทำการเปรียบเทียบสูตรอาหารเสริมที่เติมในน้ำทะเลธรรมชาติ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 ซึ่งแสดงส่วนผสมของธาตุที่เติมลงในน้ำทะเลธรรมชาติ 3 สูตร ได้แก่ สูตรของ Miquel สูตรของ Allen and Nelson และสูตรของ Ketchum and Redfield Miquel ได้เติมสารประกอบต่าง ๆ ที่เป็นส่วนประกอบของแร่ธาตุที่พืชใช้เป็นอาหารลงในน้ำทะเลเพื่อทดลองเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวและประสบความสำเร็จเป็นครั้งแรก ต่อมา Allen และ Nelson ได้ดัดแปลงสูตรของ Miquel โดยดัดสารอาหารหลายชนิดออกเนื่องจากมีอยู่แล้วในน้ำทะเล และใช้เกลือโปแตสเซียมไนเตรตเป็นหลักแทนเกลือหลายชนิดที่พืชต้องการเพียงเล็กน้อย ซึ่งปรากฏว่าได้ผลดีจนเป็นที่นิยมใช้จนถึงปัจจุบัน และต่อมา Ketchum และ Redfield ได้ปรับปรุงส่วนผสมอีกโดยเพิ่มแมกนีเซียมซัลเฟตเข้าไปในส่วนผสมของ Allen และ Nelson ซึ่งก็ได้ผลดีเช่นเดียวกัน

วิธีเตรียมน้ำผสมอาหาร ให้เตรียมสารละลาย A และ B ตามส่วนผสมที่กำหนดและแยกกันไว้ก่อน เมื่อจะใช้จึงเติมสารละลาย A และ B ลงในน้ำทะเลตามส่วนผสมที่กำหนดไว้ในตอนท้าย ของตารางที่ 1

ตารางที่ 2 แสดงส่วนผสมธาตุอาหารและสารคีเลเตอร์ที่เติมลงในน้ำทะเลธรรมชาติเพื่อเลี้ยงสาหร่ายทะเลซึ่ง Erdschreiber ได้เติมน้ำสกัดจากดินในน้ำทะเลทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตดีขึ้น แต่มีข้อเสียคือน้ำที่เตรียมได้มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอเนื่องจากน้ำทะเลและดินที่ใช้มีส่วนประกอบไม่เหมือนกันทุกครั้ง ต่อมา Sweeney ได้เพิ่มสารคีเลเตอร์ อีดีทีเอ (EDTA = Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) และใช้ไว

ตามินปี 12 แทนน้ำสกัดจากดิน หลังจากนั้น Iwasaki ได้ใช้สูตรอาหารสูตร SW II ซึ่งคล้ายสูตรของ Sweeney แต่ใช้ฟอสฟอรัสและคาร์บอนในรูปของกลีเซอรอเฟสเฟต ซึ่งมีข้อดีคือทำให้สารละลายที่เตรียมได้ไม่มีตะกอน (สุนีย์, 2523)

เมื่อมีผู้สนใจเลี้ยงสาหร่ายมากขึ้นจึงได้มีการค้นคว้าพัฒนาสูตรส่วนผสมที่ใช้เติมลงในน้ำทะเล และได้พบว่า มีสารบางอย่างที่ช่วยให้สาหร่ายเจริญเติบโตดีขึ้น และสารบางชนิดเป็นปัจจัยสำคัญในการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย สารที่เติมลงไปได้แก่สารประกอบของแร่ธาตุ Mn, Cu, Co, และ Mo เป็นต้น สูตรที่นิยมใช้ได้แก่สูตรของ Ryther and Kramer (1961) และ Sato and Serikawa (1978) ดังรายละเอียดในตารางที่ 3

ในกรณีที่ต้องการใช้น้ำทะเลเทียมซึ่งเหมาะสำหรับการเลี้ยงสาหร่ายจำนวนน้อยเพื่อทดลองเกี่ยวกับการดูดซึมแร่ธาตุในน้ำของสาหร่าย เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในสภาวะแวดล้อมที่ต่างกัน หรือการทดลองอื่นๆ ที่ต้องการควบคุมปริมาณสารละลายในอาหารที่เลี้ยง การเตรียมน้ำทะเลเทียมทำโดยใช้น้ำกลั่นหรือน้ำกรองบริสุทธิ์ผสมกับสารประกอบหลายชนิดที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของสาหร่าย และเสริมด้วยแร่ธาตุที่ช่วยการเจริญเติบโต สูตรน้ำทะเลเทียมมีมาก ตัวอย่างสูตรที่มีผู้นิยมใช้แสดงไว้ในตารางที่ 4 (ดูตารางที่ 8 และ 9 ประกอบ)

ตารางที่ 1 สูตรส่วนผสมอาหารเสริม (Enrichment Media) ที่เติมลงในน้ำทะเลธรรมชาติ

ส่วนผสม	สูตรของ Miquel	สูตรของ Allen and Nelson	สูตรของ Ketchum and Redfield
สารละลาย A			
MgSO ₄	100.0 กรัม	-	-
NaCl	10.0 กรัม	-	-
Na ₂ SO ₄	5.0 กรัม	-	-
NH ₄ NO ₃	1.0 กรัม	-	-
KNO ₃	2.0 กรัม	20.2 กรัม	20.2 กรัม
NaNO ₃	2.0 กรัม	-	-
KBr	0.2 กรัม	-	-
KI	0.2 กรัม	-	-
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร	100 มิลลิลิตร	100 มิลลิลิตร
สารละลาย B			
MgSO ₄	-	-	4.0 กรัม
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	4.0 กรัม	4.0 กรัม	4.0 กรัม
CaCl ₂ ·6H ₂ O	4.0 กรัม	4.0 กรัม	4.0 กรัม
HCl (conc.)	2.0 มิลลิลิตร	2.0 มิลลิลิตร	2.0 มิลลิลิตร
eCl ₃ (melted)	2.0 มิลลิลิตร	2.0 มิลลิลิตร	2.0 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	80.0 มิลลิลิตร	80.0 มิลลิลิตร	100.0 มิลลิลิตร
น้ำทะเล	1 ลิตร	1 ลิตร	1 ลิตร
สารละลาย A	40 หยด	2 มิลลิลิตร	0.55 มิลลิลิตร
สารละลาย B	20 หยด	1 มิลลิลิตร	0.5 มิลลิลิตร

ตารางที่ 2 สูตรส่วนผสมธาตุอาหารคีเลเตอร์ที่เติมลงในน้ำทะเลธรรมชาติ

ส่วนผสม	สูตรของ Føyn, Erdschreiber	สูตรของ Sweeney	สูตรของ Iwasaki (SWII)
NaNO ₃	10.0 มิลลิกรัม	-	-
KNO ₃	-	20.0 มิลลิกรัม	7.22 มิลลิกรัม
Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O	2.0 มิลลิกรัม	-	-
K ₂ HPO ₄	-	3.5 มิลลิกรัม	-
KN ₂ PO ₄	-	-	0.45 มิลลิกรัม
Na ₂ -glycerophosphate	-	-	1.05 มิลลิกรัม
FeCl ₃	-	0.097 มิลลิกรัม	-
MnCl ₂	-	0.0075 มิลลิกรัม	-
EDTA	-	1.0 มิลลิกรัม	0.05 มิลลิกรัม
(Fe EDTA)			
Vitamin B ₁₂	-	1.0 ไมโครกรัม	0.2 ไมโครกรัม
Soil extract	5 มิลลิลิตร	-	-
Sea Water	100 มิลลิลิตร	75 มิลลิลิตร	100 มิลลิลิตร
		เก็บไว้ในที่มืด	
	-	นานหลายเดือนก่อนใช้	
Distilled water	-	25 มิลลิลิตร	-
Tris buffer	-	-	50 มิลลิกรัม
pH		-	8.0-8.2

ตารางที่ 3 สูตรส่วนผสมธาตุอาหารและสารที่เป็นปัจจัยจำกัดการเจริญเติบโต (Trace Elements) ของสาหร่ายเพื่อการเจริญเติบโตในน้ำทะเลธรรมชาติ

ส่วนผสม	สูตรของ	สูตรของ
	Ryther and Kramer (1961) (Medium F)	Sato and Serikawa (1978)
NaNO_3	150.0 มิลลิกรัม	100.0 มิลลิกรัม
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	10.0 มิลลิกรัม	-
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	-	10.0 มิลลิกรัม
NaHCO_3	-	168.0 มิลลิกรัม
$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	30.0 มิลลิกรัม	4.0 มิลลิกรัม
Fe-EDTA	10.0 มิลลิกรัม	-
Na_2EDTA	-	3.0 มิลลิกรัม
* $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.0196 มิลลิกรัม	0.4 ไมโครกรัม
* $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.044 มิลลิกรัม	-
* $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.020 มิลลิกรัม	0.8 ไมโครกรัม
* $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.360 มิลลิกรัม	0.27 ไมโครกรัม
* $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.0126 มิลลิกรัม	-
* $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	-	0.24 มิลลิกรัม
* ZnCl_2	-	0.03 มิลลิกรัม
* H_3BO_3	-	3.44 มิลลิกรัม
Thiamine HCl	0.2 มิลลิกรัม	-
Biotin	1.0 ไมโครกรัม	-
Vitamin	1.0 ไมโครกรัม	-
Seawater	1 ลิตร	1 ลิตร

ตารางที่ 4 ส่วนผสมของน้ำทะเลเทียม (Artificial Seawater) หรือน้ำทะเลสังเคราะห์ (Synthetic Seawater)

ส่วนผสม	สูตรของ Provasoli <i>et al</i> (1957) (ASP-2)	สูตรของ Droop (1954) (S ₅₀)	สูตรของ Umebayashi (1961)
น้ำกลั่น	10.0 มิลลิลิตร	100 มิลลิลิตร	100 มิลลิลิตร
NaCl	1.8 กรัม	1.5 กรัม	2.4 กรัม
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 กรัม	-	0.8 กรัม
MgCl ₂ ·6H ₂ O	-	0.25 กรัม	-
KCl	0.06 กรัม	40.0 มิลลิกรัม	70.0 มิลลิกรัม
Ca (as Cl ₂)	10.0 มิลลิกรัม	-	36.8 มิลลิกรัม
CaSO ₄ ·2H ₂ O	-	50.0 มิลลิกรัม	-
NaNO ₃	5.0 มิลลิกรัม	-	10.0 มิลลิกรัม
KNO ₃	-	10.0 มิลลิกรัม	-
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	-	-	10.0 มิลลิกรัม
K ₂ HPO ₄	0.5 มิลลิกรัม	1.0 มิลลิกรัม	16.8 มิลลิกรัม
NaHCO ₃	-	-	0.4 มิลลิกรัม
Na ₃ SiO ₃ ·9H ₂ O	13.0 มิลลิกรัม	-	-
Tris	0.1 กรัม	-	-
Thymine	-	0.1 มิลลิกรัม	-
Vitamin B ₁₂	0.2 ไมโครกรัม	10.0 ไมโครกรัม	-
*Vitamin Mix S ₃	1.0 มิลลิลิตร	-	-
Na ₂ EDTA	3.0 มิลลิลิตร	5.0 มิลลิลิตร	-
Fe	0.08 มิลลิลิตร	50.0 ไมโครกรัม	-
Zn	15.0 ไมโครกรัม	0.5 ไมโครกรัม	-
Mn	0.12 มิลลิกรัม	5.0 ไมโครกรัม	-
Co	0.3 ไมโครกรัม	50.0 ไมโครกรัม	-
Cu	0.1 ไมโครกรัม	0.5 ไมโครกรัม	1 มิลลิลิตร
B	0.6 ไมโครกรัม	-	(P ₁ solution)**
Mo	-	50.0 ไมโครกรัม	-
Br	-	2.2 มิลลิกรัม	-
Sr	-	0.38 มิลลิกรัม	-
Al	-	2.8 ไมโครกรัม	-

ตารางที่ 4 ส่วนผสมของน้ำทะเลเทียม (Artificial Seawater) หรือน้ำทะเลสังเคราะห์ (Synthetic Seawater)

ส่วนผสม	สูตรของ Provasoli <i>et al.</i> (1957) (ASP-2)	สูตรของ Droop (1954) (S ₅₀)	สูตรของ Umebayashi (1961)
Rb	-	6.1 ไมโครกรัม	-
Li	-	0.6 ไมโครกรัม	-
I	-	2.0 ไมโครกรัม	-
PH adjusted to	7.6-7.8	8.0	-

* 1 มิลลิลิตรของ Vitamin Mix S₃ มีส่วนประกอบดังนี้

น้ำกลั่น	1	ลิตร
Thiamine HCl	0.05	มิลลิกรัม
Nicotinic acid	0.01	มิลลิกรัม
Ca pantothenate	0.01	มิลลิกรัม
p-aminobenzoic acid	1.0	ไมโครกรัม
Biotin	0.1	ไมโครกรัม
Folic acid	0.2	ไมโครกรัม
Inositol	0.5	มิลลิกรัม
Thymine	0.3	มิลลิกรัม

** P₁ solution มีส่วนประกอบดังนี้

น้ำกลั่น	1	ลิตร
Na ₂ EDTA	3.0	กรัม
FeCl ₃ .6H ₂ O	0.3	กรัม
ZnCl ₂	0.03	กรัม
MnCl ₂ .4H ₂ O	0.43	กรัม
CoCl ₂ .6H ₂ O	12.1	มิลลิกรัม
CuSO ₄ .5H ₂ O	4.7	กรัม
H ₃ BO ₃	3.43	กรัม

5.5 เทคนิคการแยกเชื้อและการทำให้เชื้อบริสุทธิ์ (Isolation and purification techniques)

เทคนิคการแยกเชื้อและการทำให้เชื้อบริสุทธิ์ อ้างอิงผลงานของ Stein (1973) และ Vonshak (1986) เป็นหลัก เนื่องจากสาหร่ายมีรูปร่างลักษณะและความต้องการสภาพการเลี้ยงแตกต่างกันตามชนิด ฉะนั้นจึงต้องเลือกเทคนิคการแยกเชื้อและการทำให้เชื้อบริสุทธิ์ให้ถูกต้องเหมาะสม การเก็บเชื้อสาหร่าย (collection) เป็นเรื่องที่ต้องคำนึงถึงประเภทแรก

การเก็บเชื้อสาหร่าย (collection) ปกติจะเก็บจากธรรมชาติ วิธีแรกโดยการใช้ถุงลากแพลงก์ตอน (plankton net) ส่วนสาหร่ายที่เป็นเส้นอาจเก็บโดยการขูดตามก้อนหิน ขูดตามส่วนของพีชีน้ำ เช่น ลำต้น และใบ เป็นต้น ควรทำการศึกษารูปร่างลักษณะทันทีหลังจากการเก็บเพื่อข้อมูลเบื้องต้น เนื่องจากสาหร่ายบางชนิดอาจเน่าเสียในเวลาอันสั้นเพียง 2-3 ชั่วโมง

การเก็บจากธรรมชาติวิธีที่สอง โดยการเก็บจากดิน วิธีเก็บให้น้ำดินหรือทรายแห้ง ๆ ซึ่งเก็บจากบริเวณ ชายน้ำ ผึ่งตัวอย่างดินให้แห้งสนิท นำตัวอย่างดินใส่จานแก้ว (petri dish) หยดน้ำลงบนดินนี้เล็กน้อย นำจานแก้วไปวางในที่ที่มีแสงสว่าง ซึ่งต่อมากจะมีสาหร่ายและ/หรือโปรโตซัวเกิดขึ้นภายในเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง ด้วยวิธีนี้เราอาจเก็บรักษาสาหร่ายในสภาพสปอร์ตัวอ่อน (zygote) หรือในสภาพอื่นนานนับปี โดยเก็บตัวอย่างดินไว้ในขวดแก้วหรือถุงพลาสติก ที่ปิดสนิท

1 การแยกเชื้อ (Isolation)

เป็นเทคนิคเพื่อให้ได้สาหร่ายเป็นชนิดเดียวกันทั้งหมด หรือเป็นการเลี้ยงสาหร่ายเพียงชนิดเดียว (unialgal) ควรตั้งต้นจากสาหร่าย 1 เส้น เพียง 1 เซลล์ หรือ 2-3 เซลล์ ซึ่งนิยมเรียกว่า โค ลนส์ (clones) ฉะนั้น จึงอาจเรียกสาหร่ายที่ได้จากการเลี้ยงแบบนี้ว่า clone culture เทคนิคหลัก ๆ ในการแยกเชื้อสาหร่ายมี 3 วิธี ดังนี้

(1) เทคนิคการล้างเซลล์ด้วยไมโครปิเปต (Micropipette washing) เป็นวิธีการแยกเชื้อที่ง่ายที่สุด เหมาะสำหรับการเลี้ยงเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กซึ่งต้องอาศัยด้วยกล้องจุลทรรศน์และจำเป็นต้องอาศัยปิเปตขนาดเล็ก (micropipette) ดูดสาหร่ายทีละเซลล์หรือจำนวนเซลล์ไม่มากนัก แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง

การเตรียมเราอาจใช้หลอดแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3-4 มิลลิเมตร เพื่อทำอุปกรณ์สำหรับดูดเซลล์สาหร่าย วิธีทำใช้ปากคีบจับปลายด้านหนึ่งของหลอดแก้ว แล้วเผาปลายหลอดด้วยตะเกียงบุนเส้น จนกระทั่งหลอดแก้วอ่อนตัว ขณะเดียวกันให้ใช้ปากคีบดึงหลอดแก้วเพื่อให้หลอดยาวขึ้น เส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดจะเล็กลง การดึงควรดึงอย่างรวดเร็วและต้องดึงอย่างนุ่มนวลมิฉะนั้นปลายหลอดจะไม่ได้ขนาดที่เหมาะสม เมื่อได้ขนาดปลายตามต้องการแล้วให้ใช้ปากคีบดึงส่วนที่ไม่ต้องการทิ้งเสีย ส่วนปลายอีกด้านหนึ่งใส่หลอดยางเพื่อให้ดูดเซลล์

นำตัวอย่างน้ำที่มีสาหร่ายชนิดที่ต้องการ หลอดลงบนสไลด์กระจกนาฬิกาหรือจานแก้ว ส่งดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ควรหยดตัวอย่างหลาย ๆ จุด เพื่อจะได้มีตัวอย่างน้ำพอเพียง เมื่อพบเซลล์สาหร่ายที่ต้องการให้จุ่มปลายไมโครปิเปต กระทั่งปลายปิเปตอยู่บนเซลล์พอดี แล้วทำการดูดเซลล์ออกจากตัวอย่างน้ำอย่างระมัดระวัง ทำเช่นนี้หลายครั้งจนกว่า จะได้เซลล์จำนวนมากตามความต้องการ หรืออย่างน้อยควรมีจำนวน 12-15 เซลล์ ดูดเซลล์ที่ต้องการใส่ในน้ำที่ฆ่าเชื้อแล้วเพื่อล้างสิ่งสกปรกออกสัก 6-12 ครั้ง

ต่อจากนี้นำเซลล์ 1 เซลล์ ใส่ในหลอดแก้วสำหรับเลี้ยงจำนวน 1 เซลล์/หลอด วางหลอดแก้วในที่ที่มีแสงสว่างเพื่อให้สาหร่ายเติบโต ซึ่งต้องใช้เวลา 3-6 สัปดาห์

ถ้าต้องการแยกเชื้อสาหร่ายที่เป็นเส้นก็ใช้เทคนิคเดียวกันกับเทคนิคที่กล่าวมาแล้ว เพียงแต่ทำการตัดแปลงเล็กน้อยโดยการดึงหลอดแก้วให้เป็นขอขนาดเล็ก (microhook) แทนที่จะดึงหลอดให้เป็นเส้นตรง เนื่องจากว่าสามารถใช้ข้อนี้เกี่ยวเส้นสาหร่ายเพื่อนำมาเลี้ยงได้ง่าย หลังจากนำเส้นสาหร่ายล้างน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วหลาย ๆ ครั้ง แล้วจุ่มเส้นสาหร่ายในจานแก้วที่มีวุ้นนุ่ม ๆ (0.5-0.75%) หลาย ๆ ครั้ง (5-7 ครั้ง) เพื่อกำจัดสาหร่ายขนาดเล็กที่เกาะบนเส้นสาหร่าย (epiphytic) ออกให้หมด

(2) เทคนิคอะตอมไมเซอร์ (Atomizer technique) เป็นวิธีค่อนข้างง่ายซึ่ง วิเดอร์แมน และคณะ ได้พัฒนาขึ้นมาใช้เมื่อปี ค.ศ. 1964 เทคนิคนี้สามารถใช้ได้ทั้งการแยกเชื้อ (isolation) และการทำให้เชื้อบริสุทธิ์ (purification) ทำโดยล้างสาหร่ายจำนวน 8-9 มิลลิลิตรด้วยวิธีการปั่นให้ตก ตะกอน (centrifugation) ด้วยกรรมวิธีในเทคนิคข้อ 1 จุ่มหลอดไมโครปิเปตลงในหลอดแก้วโดยให้ปลายปิเปตแตะกับหลอดแก้วของเครื่องปั่น ใช้จุกสำลีดุดเพื่อให้ปิเปตอยู่กับที่ (ภาพที่ 2) ตีร่งหลอดแก้วให้ตั้งตรงด้วยห่วงเหล็ก ทำการพ่นอากาศเข้าไปในหลอดแก้วที่ใส่ตัวอย่างโดยผ่านทางปิเปต ละอองสาหร่ายจะปลิวขึ้นจากหลอดแก้วมาตกบนจานแก้วบรรจุอาหารซึ่งได้เตรียมไว้แล้ว ควรวางจานอาหารให้ห่างจากหลอดบรรจุตัวอย่างประมาณ 25 เซนติเมตร นำฝาปิดจานอาหารแล้วนำไปเลี้ยงในที่ที่มีแสงสว่าง ในวันที่ 5-7 จะเริ่มมีสาหร่ายเกิดขึ้น ให้เก็บเซลล์ที่ต้องการใส่ในหลอดแก้วที่มีอาหารเหลวเพื่อทำการขยายพันธุ์ต่อไป

(3) การเลือกใช้สูตรอาหาร (Selective media) วิธีที่ได้กล่าวมาแล้ว 2 วิธีข้างต้นนั้นเหมาะแก่การใช้แยกสาหร่ายขนาดเล็กซึ่งต้องส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ แต่ไม่เหมาะกับสาหร่ายที่มีขนาดใหญ่ จึงต้องใช้เทคนิคการเลือกสูตรอาหารแทน

วิธีทำโดยเลือกชิ้นส่วนสาหร่ายที่ต้องการเลี้ยง ทำการขจัดสิ่งมีชีวิตที่เกาะบนเส้นสาหร่ายออกให้หมด ตรวจสอบดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (dissecting microscope) อีกครั้ง ถ้ายังไม่หมดให้ใช้แปรงเล็ก ๆ เชี่ยวออกจนหมด ต่อจากนั้นจึงใช้ขอขนาดเล็กที่เตรียมจากหลอดแก้วเผาไฟเกี่ยวเส้นสาหร่ายเพื่อล้างให้สะอาดในน้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้วใส่ตัวอย่างสาหร่ายในภาชนะที่มีสารอาหารผสมด้วยเจลาตินมาเนียมไดออกไซด์ 10 มิลลิกรัม/ลิตร จุดประสงค์เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดไดอะตอมหรือสาหร่ายที่ต้องใช้ซิลิกาเพื่อการเติบโตในหลอดเลี้ยงสาหร่าย

นอกจากเทคนิคหลัก ๆ 3 แบบที่ได้กล่าวมาแล้ว ยังมีเทคนิคอื่น ๆ รวมทั้งเทคนิคที่ได้พัฒนาหรือดัดแปลงเพื่อให้เลือกตามความเหมาะสมอีก ดังนี้

(4) การเพาะบนอาหารวุ้น (Agar pour plate) โดยการผสมตัวอย่างน้ำเล็กน้อยกับอาหารวุ้นซึ่งเจือจางที่ยังไม่แข็งตัวนัก เขย่าให้เข้ากันดี เทอาหารวุ้นลงจานแก้ว (petri dish) ทิ้งไว้จนวุ้นแข็งตัวภายใน 5-7 วันจะมีสาหร่ายเกิดขึ้นบนอาหารวุ้น ใช้มีดที่สะอาดตัดวุ้นเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปเลี้ยงในหลอดแก้วที่มีสารละลายอาหาร การใช้ประโยชน์จากปฏิกิริยาหนีแสงหรือเข้าหาแสงสว่าง (taxis) ของสาหร่ายชนิดที่มีหนวด รวมทั้งแยกเชื้อซ้ำกันหลาย ๆ ครั้ง ผู้เลี้ยงจะสามารถแยกเชื้อสาหร่ายได้ (ภาพที่ 3)

(5) ดุลยภาพทางออสโมติก (Osmotic balance) เป็นวิธีที่อาศัยความแตกต่างของดุลยภาพทางออสโมติกของสาหร่ายในการแยกชนิด โดยการสร้างสาหร่ายด้วยสารละลายเกลือที่มีความเข้มข้นทาง

ออสโมติกต่างกันสลับกับล้างตัวอย่างในน้ำกลั่นหลายครั้ง การล้างแต่ละครั้งต้องใช้ความรวดเร็วเพื่อไม่ให้เซลล์เสื่อมคุณภาพ ด้วยวิธีนี้เราสามารถแยกโปรโตซัวออกจากสาหร่ายที่มีหนวดและไม่มีผนังหุ้มเซลล์ได้สำเร็จ

(6) โครงสร้างของการสืบพันธุ์ (Reproductive structures) เป็นวิธีที่อาศัยโครงสร้างการสืบพันธุ์ของสาหร่าย ได้แก่ สปอร์ ซิสต์ ตัวอ่อน เตตราสปอร์ และอื่น ๆ เพื่อใช้ประโยชน์ในการแยกเชื้อสาหร่ายเพื่อทำเชื้อสาหร่ายให้บริสุทธิ์

2. การทำเชื้อสาหร่ายให้บริสุทธิ์ (Purification)

เมื่อได้เชื้อสาหร่ายที่มีสาหร่ายเพียงชนิดเดียวซึ่งเติบโตดีแล้ว ขั้นตอนต่อไปจึงจำเป็นต้องนำสาหร่ายไปใช้เพื่องานวิจัยนั้นต้องทำให้สาหร่ายที่ได้ปลอดจากเชื้อ เช่น แบคทีเรีย ซึ่งเรียกว่า axenic culture มีวิธีทำดังต่อไปนี้

(1) การล้างด้วยเทคนิคการปั่นให้ตกตะกอน (Washing by centrifugating technique) การแยกแบคทีเรียออกจากสาหร่ายสามารถทำได้ด้วยการปั่นให้ตกตะกอนแล้วล้างด้วยสารละลายที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วโดยใช้หลอดปั่นอย่างหนาความจุ 15 มิลลิลิตร ใส่ตัวอย่างสาหร่ายลงในหลอดปั่น ทำการปั่นตัวอย่างสาหร่ายด้วยความเร็วประมาณ 2,000 รอบต่อนาที นาน 45-90 วินาที รินน้ำใส่ออกให้หมด เทตัวอย่างสาหร่ายลงในน้ำหรือสารละลายที่ฆ่าเชื้อแล้ว ทำเช่นนี้จนครบอย่างน้อย 12 ครั้ง

เมื่อล้างจนครบ 12 ครั้งแล้ว รินน้ำใส ๆ ข้างบนออกโดยไม่ทำให้ตะกอนขุ่น เทตะกอนสาหร่ายในหลอดแก้วที่มีสารละลายที่ฆ่าเชื้อแล้ว 1 มิลลิลิตร ใช้ปิเปตที่ปลอดเชื้อดูดสาหร่ายในหลอดนี้ 2-3 หยดหยดในจานอาหารวุ้น (ใช้สูตร Bristol agar, proteose agar หรือ soil extract agar) ใช้ปลายหลอดที่ฆ่าเชื้อแล้วลากเส้นบนจานเป็นรูปห้าเหลี่ยม เมื่อลาก หลุมมาสุดแต่ละมุมของรูปห้าเหลี่ยมนี้ต้องเผาหลอดเข้าทุกครั้งเพื่อฆ่าเชื้อ และให้ใช้เซลล์ที่ปลายสุดของการลากครั้งสุดท้ายเป็นเชื้อสำหรับการลากเส้นต่อไป (ดูภาพที่ 3 ประกอบ) ด้วยวิธีนี้จำนวนเซลล์สาหร่ายที่ปนอยู่บนเส้นที่ลากจะลดน้อยลงทุกที ฉะนั้น เมื่อทำการเลี้ยงสาหร่ายได้ระยะหนึ่งกลุ่มเซลล์สาหร่ายจะมีช่องว่างห่างกันมากขึ้นจนสามารถเก็บเซลล์เพียงเซลล์เดียวจากจานเลี้ยงได้

เมื่อเลี้ยงสาหร่ายจนครบ 5-7 วัน ควรตรวจดูจานเลี้ยงสาหร่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เลือกเก็บสาหร่ายที่ปลอดจากสิ่งปนเปื้อน (แบคทีเรียและรา) เพื่อถ่ายลงเลี้ยงในหลอดอาหารวุ้นที่แบบเลี้ยง (fresh agar slants) ต่อไป

(2) เทคนิคทางปฏิชีวนะ (Antibiotics technique) ยาปฏิชีวนะ เช่น เพนนิซิลิน สเตรพโตมัยซิน เตตราซัยคลิน กานามัยซิน และอื่น ๆ ใช้ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ปนอยู่ในอาหารเลี้ยงสาหร่ายได้ แต่ต้องใช้ในขนาดที่พอเหมาะเพื่อจะได้ไม่ทำอันตรายแก่สาหร่าย นอกจากนี้การใช้ยาปฏิชีวนะหลายชนิดผสมกันสามารถทำให้เชื้อสาหร่ายปลอดจากเชื้อโรคได้สำเร็จ สูตรส่วนผสมของยาปฏิชีวนะมี 2 สูตรดังนี้

สูตรที่ 1 ส่วนประกอบของสต็อกของสารละลายมีดังนี้

- เพนนิซิลิน จี (1,625 หน่วย/มิลลิกรัม)	0.6	กรัม
- สเตรพโตมัยซิน	1.0	กรัม
- น้ำกลั่น	200	มิลลิลิตร

ผสมส่วนประกอบทั้งหมดให้เข้ากันแล้วกรองนำไปฆ่าเชื้อเก็บสต็อกในสภาพแช่แข็งเวลาใช้ให้

นำสต็อก 1 มิลลิลิตร ผสมกับอาหาร 100 มิลลิลิตร ย้ายสาหร่ายลงในส่วนผสมอาหารนี้ ตั้งทิ้งไว้นาน 48 ชั่วโมง แล้วจึงถ่ายเชื้อสาหร่ายไปเลี้ยงในสารอาหารที่เตรียมขึ้นใหม่ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อโรคและไม่เติมยาปฏิชีวนะ

สูตรที่ 2 ส่วนประกอบของสต็อกมีดังนี้

- เค เพนนิซิลิน	12,000	หน่วย
- คลอแรมเฟนิคอล	50	ไมโครกรัม
- โพลีมัยซิน	50	ไมโครกรัม
- ฟิโอมัยซิน	60	ไมโครกรัม

เมื่อเตรียมเสร็จจะได้สารละลายสต็อกปริมาณ 1 มิลลิลิตร

กรองสารละลาย เอาตะกอนออก แล้วทำการฆ่าเชื้อ ผสมสต็อกปริมาณ 1.5 มิลลิลิตรต่อสารอาหารปริมาณ 100 มิลลิลิตร นำสาหร่ายลงเลี้ยงในสารอาหารที่เตรียมขึ้นนี้ โดยวางไว้ในที่มีแสงสว่างนานประมาณ 7 วัน วิธีนี้มีผลเสียอยู่บ้างเพราะยาปฏิชีวนะบางชนิดถ้าใช้มากจะทำให้รูปเซลล์เปลี่ยนแปลงไป แต่วิธีนี้เป็นวิธีที่สามารถทำให้สาหร่ายซึ่งมีวุ้นหุ้มรอบเซลล์ปลอดภัยจากเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าวิธีอื่น

(3) เทคนิคการใช้แสงอุลตราไวโอเลต (UV Light technique) เหตุที่นำแสงอุลตราไวโอเลตมาใช้กำจัดแบคทีเรียเนื่องจากสาหร่ายส่วนมากมีความสามารถทนทานต่อแสงชนิดนี้ เทคนิคแบบนี้เหมาะสมอย่างยิ่งกับสาหร่ายชนิดที่มีเมือกหนา ๆ หุ้มเซลล์

วิธีปฏิบัติโดยใช้แสงอุลตราไวโอเลตขนาด 2,750 อังสตรอม วางหลอดเหนือภาชนะเลี้ยงสาหร่ายประมาณ 25 เซนติเมตร ใช้เวลานาน 8-16 นาที ต่อจากนั้นจึงทำการย้ายเซลล์บนจานวุ้นไปเลี้ยงในอาหารเหลวที่เตรียมขึ้นใหม่

(4) เทคนิคการกรอง (Filter technique) ใช้เครื่องกรองชนิดมิลลิพอร์ หรือ membrane filter แยกสาหร่ายชนิดเส้นออกจากแบคทีเรีย ต่อจากนั้นจึงตัดเส้นสาหร่ายออกเป็นท่อนสั้น ๆ (ความยาว 1-5 เซลล์) ใส่ชิ้นสาหร่ายลงในภาชนะเลี้ยงที่มีกรวยพร้อมกระดาศกรอง (ปลอดเชื้อ) ขนาดตา 8 ไมครอนติดอยู่ อุปกรณ์สำหรับกรองนี้จะต่อกับปั๊มสุญญากาศ นำชิ้นสาหร่าย ที่กรองแล้วจากแผ่นกรองใส่ลงในสารอาหารที่สะอาดปริมาณ 2 ลิตร ควรเปลี่ยนกระดาศกรองหลาย ๆ ครั้ง เทชิ้นสาหร่ายลงในฟลาสก์ที่มีอาหารวุ้นแบคทีเรีย (Bacto nutrient agar) ซึ่งยังเหลวและเย็นเขย่าขวดให้สาหร่ายกระจายกันอย่างสม่ำเสมอแล้วเทอาหารวุ้นลงในจานแก้ว (petri dish) ตั้งทิ้งไว้นาน 2-3 วัน ต่อจากนั้นจึงตัดวุ้นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วย้ายวุ้นซึ่งมีสาหร่ายที่ปราศจาก แบคทีเรียไปเลี้ยงต่อในอาหารเหลวที่ปลอดเชื้อต่อไป

5.6 การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อสาหร่าย (Testing for purity)

เมื่อสาหร่ายผ่านกระบวนการทำให้สะอาดแล้ว ผู้เลี้ยงควรทำการตรวจสอบเพื่อให้แน่ใจว่าสาหร่ายปราศจากแบคทีเรียแล้วโดยทั่วไปการตรวจสอบทำโดยเลี้ยงสาหร่ายในอาหารมาตรฐานสำหรับเลี้ยงแบคทีเรีย 6 ชนิด อาหารเลี้ยงแบคทีเรียที่ใช้ได้แก่ nutrient broth อาหารยูน yeast-dextrose agar, proteose peptone agar, malt agar, sodium caseinate agar และ thoglycollate agar สูตรของอาหารเลี้ยงแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิดมีดังนี้

(1) Nutrient broth ประกอบด้วย

เนื้อผง	3	กรัม
เพปโตเน	5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับค่าให้อยู่ pH ระหว่าง 6.8-7.0

(2) Yeast-dextrose agar ประกอบด้วย

ผงยีสต์	200	กรัม
เดกซ์โตรส	20	กรัม
ยูนผง	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

(3) Proteose peptone agar ประกอบด้วย

โปรตีโอส	5	กรัม
กลูโคส	5	กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	5	กรัม
ยูนผง	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	กรัม

ปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 6.8-7.0

(4) Malt agar ประกอบด้วย

ข้าวมอลท์ผง	30	กรัม
ยูนผง	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

(5) Sodium caseinate หรือ Casein agar ประกอบด้วย

โซเดียม คาร์ไซเนท	2.0	กรัม
กลูโคส	1.0	กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.2	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.2	กรัม
เฟอร์รัสซัลเฟต เล็กน้อย		

วุ้นผง	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1	กรัม

ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 7.0

(6) Thioglycollate agar (ไมไธเดคซีโตรส) ประกอบด้วย

ยีสต์ผง	5.0	กรัม
คาซิโตน (Casitone)	15.0	กรัม
เกล็ดแกง	2.5	กรัม
L-cystine	0.25	กรัม
กรดไธโอไกลโคลลิก (Thioglycollic acid)	0.3	กรัม
วุ้นผง	0.75	กรัม
ซีเมมิลีนบลู	0.002	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับ pH ของอาหารให้เท่ากับ 7.2

5.7 การฆ่าเชื้อ (Sterilization)

การฆ่าเชื้อวัสดุทุกชิ้นในกระบวนการเลี้ยงสาหร่ายเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ผู้เลี้ยงควรให้ความสนใจ ฉะนั้นขวดแก้วปิเปต ภาชนะทุกชิ้นรวมทั้งสารอาหารต้องผ่านการฆ่าเชื้อเสียก่อน โดยทั่วไปนิยมใช้หม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นึ่งนาน 15 นาที ในกรณีที่เลี้ยงสาหร่ายน้ำเค็มต้องกรองน้ำทะเลด้วยเครื่องกรองที่ฆ่าเชื้อเสียก่อน

5.8 การเก็บรักษาเชื้อสาหร่าย (Culture maintenance)

ก่อนเริ่มลงมือเลี้ยงผู้เลี้ยงควรเตรียมอาหารและเครื่องใช้เพื่อเตรียมย้ายเชื้อสาหร่ายที่ได้รับ เมื่อได้รับเชื้อสาหร่ายจากแหล่งที่ต้องการแล้วควรคลายจุลภาชนะทิ้งไว้ในที่มีแสงสลัวถ้าเป็นไปได้รับเปลี่ยนอาหารทันที โดยใช้แต่อาหารที่เจือจางกว่าปกติถ้าเป็นสาหร่ายน้ำเค็มต้องใช้น้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และควรใช้แต่อาหารที่มีความเข้มข้นเพียงครึ่งหนึ่งของความเข้มข้นปกติจะช่วยให้สาหร่ายคืนสู่สภาพปกติได้

การเก็บรักษาพันธุ์สาหร่ายไม่ว่าจะเป็นแบบ unialgal หรือ pure culture ก็ตาม จะต้องค่อยเปลี่ยนน้ำเลี้ยงใหม่ในระยะเวลาที่สาหร่ายเจริญเติบโตเต็มที่ มิฉะนั้นสาหร่ายจะค่อย ๆ ตายหมด ควรเปลี่ยนน้ำเลี้ยงใหม่ทุก 2 สัปดาห์ สาหร่ายบางชนิดอาจอยู่ได้นานถึง 1-2 เดือน ถ้าดูแลดีสาหร่ายจะอยู่ได้นานกว่านี้ แต่บางชนิดต้องดูแลเพาะใหม่อยู่เสมอทำให้เป็นภาระแก่ผู้เลี้ยงฉะนั้นเราอาจขยายเวลาการเพาะให้นานออกไปโดยลดการเจริญเติบโตของสาหร่าย เช่น เก็บในอุณหภูมิต่ำ 5-10°C หรือให้ความเข้มแสงน้อยลงประมาณ 200-500 ลักซ์ หรือน้ำเลี้ยงชนิดที่มีธาตุอาหารเจือจางกว่าปกติ การเลี้ยงสาหร่ายบนวุ้นในจานแก้วหรือหลอดแก้วก็สามารถเก็บไว้ในตู้เย็นได้เป็นเวลานาน สาหร่ายสีเขียวบางชนิดอาจเก็บได้นาน 5 ปี ถ้าฝึกงาน

แก้วที่เลี้ยงสาหร่ายด้วยกระดาดขาวและเก็บไว้ในที่มีแสงสลัวอาจอยู่ได้นาน 3 เดือนแล้วก็ต้องเพาะใหม่ ถ้าเก็บสาหร่ายบางชนิดไว้ในที่มีมืดและมีอุณหภูมิต่ำมาก เช่น 3°C พบว่า *Chlorella* sp. อยู่ได้นานเกิน 22 เดือน *Skeletonema costatum* อยู่ได้เพียง 2 เดือนแต่ *Chlamydomonas* sp. *Tetraselmis* sp. และ *Isochrysis* sp. ไม่สามารถเก็บด้วยวิธีนี้ (มุสดี, 2523)

5.9 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

แบ่งออกได้ 2 ประเภท คือ

1. ปัจจัยทางฟิสิกส์
2. ปัจจัยทางเคมี

1. ปัจจัยทางฟิสิกส์

ก. แสงสว่าง (Illumination) การเปลี่ยนเชื้อสาหร่ายจากสต็อกสาหร่ายไปใส่สารอาหารที่เตรียมขึ้นมาใหม่นั้นควรใช้ปริมาณเพียงเล็กน้อยเท่านั้น โดยวางหลอดแก้วที่มีเชื้อสาหร่ายในที่มีแสงฟลูออเรสเซนต์ประมาณ 400 แรงเทียน นาน 7-10 วัน เพื่อให้สาหร่ายเจริญเติบโต เมื่อสาหร่ายเจริญดีแล้วควรย้ายหลอดแก้วไปเลี้ยงในที่มีแสงน้อยลง (50-100 แรงเทียน) เพื่อให้การเติบโตของสาหร่ายลดลงจะได้เก็บเชื้อได้เป็นเวลานาน ถ้าต้องการเลี้ยงสาหร่ายเพื่อเก็บรักษาระยะยาว ให้เก็บหลอดแก้วไว้ในที่มีระดับแสงปริมาณนี้นานตั้งแต่ 3 เดือน ถึง 1 ปี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดสาหร่ายที่เลี้ยง ระยะเวลาที่เก็บจะนานเท่าใดมีผลอยู่ว่าถ้าเป็นสาหร่ายที่มีหนวดควรมีการถ่ายเชื้อเพื่อเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 3-4 เดือน ส่วนสาหร่ายที่ไม่มีหนวด และชนิดเส้นสาย (filamentous algae) ควรถ่ายเชื้อทุก 6 เดือนถึง 1 ปี หรือถ้าต้องการนำสาหร่ายไปใช้เพื่อการสอน ควรทำการถ่ายเชื้อ (subculture) อีกครั้งหนึ่งก่อนการนำไปใช้ภายในเวลาตั้งแต่ 10-30 วัน

ควรใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์ดีกว่าใช้หลอดไฟธรรมดาหรือแสงแดด เนื่องจากว่าอุณหภูมิจากแสงประเภทอื่นมักสูงกว่าแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ หากจำเป็นต้องใช้แสงจากดวงอาทิตย์ควรมีฉากบังเพื่อลดความจ้าของแสง

ช่วงแสงสว่างเป็นเรื่องที่จำเป็นมากในการเลี้ยงสาหร่ายโดยการให้แสงสว่างเวลาหนึ่งและหยุดการให้แสงสว่างเวลาหนึ่งจะทำให้การเลี้ยงได้ผลผลดีกว่าการให้แสงติดต่อกันตลอดเวลา การตั้งเวลาก็โดยใช้นาฬิกาช่วย ช่วงแสงสว่างที่นิยมใช้ คือ 12 ชั่วโมงให้แสง 12 ชั่วโมงหยุดการให้แสง หรือ 12 ชั่วโมงสว่าง/ 12 ชั่วโมงมืด หรือ 12 ชั่วโมงสว่าง สลับกับ 8 ชั่วโมงมืด บางแห่งนิยมใช้วงจรช่วงแสงสว่างดังนี้ 16 ชั่วโมงแสงสว่าง/ 8 ชั่วโมงมืด ในช่วงเวลาสั้น ๆ แล้วเปลี่ยนเป็น 12 ชั่วโมงสว่าง/ 12 ชั่วโมงมืด เพื่อเก็บหัวเชื้อสาหร่าย ซึ่งให้ผลดีเป็นที่พอใจ

ข. อุณหภูมิ (Temperature) สาหร่ายน้ำจืดเกือบทุกชนิดเจริญเติบโตได้ดีที่ระดับอุณหภูมิตั้งแต่ 15-25°C ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 30°C สาหร่ายจะตาย สาหร่ายน้ำเค็มชอบอุณหภูมิระหว่าง 5-15°C

และจะตายถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 20°C แต่มีสาหร่ายบางชนิดสามารถทนอุณหภูมิสูง ๆ ได้ดี เช่น *Anacystis nidulans* ซึ่งทนอุณหภูมิสูงกว่า 30°C ได้ แต่ต้องควบคุมอุณหภูมิในการเลี้ยงให้คงที่ตลอดเวลา

ค. ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) เป็นปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งเพราะสาหร่ายแต่ละชนิดมีความต้องการ pH ในระดับที่แตกต่างกันเช่นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสภาพเป็นกลางจนถึงมีสภาพเป็นกลางจนถึงมีสภาพเป็นด่าง หรือมีค่าของ pH ประมาณ 6.0-7.5 สาหร่ายสีเขียวบางกลุ่มเช่น *Desmids* ชอบน้ำที่มีสภาพเป็นกรดอ่อนหรือเป็นกรดซึ่งมีค่าของ pH ระหว่าง 5.5-6.5 โดยทั่วไปสาหร่ายส่วนมากจะเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสภาพเป็นด่าง

ง. ความเค็ม (Salinity) มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการเลี้ยงสาหร่ายน้ำเค็ม สาหร่ายบางชนิดชอบอยู่ในน้ำกร่อยที่มีความเค็มประมาณ 28-30 ส่วนในล้าน บางชนิดทนต่อความเค็มสูงได้ดี เช่น สาหร่ายสีเขียวสกุล *Dunaliella* เป็นต้น

นอกจากปัจจัยที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นแล้ว ยังมีปัจจัยชนิดอื่นที่มีส่วนเกี่ยวข้องต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายอีก เช่น แก๊สออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ ความกระด้างของน้ำ เป็นต้น ซึ่งมีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อสาหร่าย เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ กล่าวคือพืชใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการสังเคราะห์ และในเวลาเดียวกันปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จะมีผลต่อระดับความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ หากพืชสังเคราะห์แสงมาก ค่า pH จะสูงขึ้น และหากสูงถึง 9-11 จะทำให้สาหร่ายไม่เติบโตหรือตายได้

2. ปัจจัยทางเคมี

การเจริญเติบโตของสาหร่ายขึ้นอยู่กับอาหารที่ใช้เลี้ยง ซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของสาหร่าย อาหารหรือธาตุอาหารจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่ายแบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มธาตุอาหารหลัก (macronutrient) และกลุ่มธาตุอาหารรอง (micronutrient) ธาตุอาหารหลักคือธาตุอาหารที่ประกอบเป็นโครงสร้างของสาหร่าย ดังนั้นจึงต้องใช้เป็นปริมาณค่อนข้างมาก ซึ่งมักมีหน่วยเป็นกรัม ประกอบด้วย คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม ซัลเฟอร์ และโปแตสเซียม ส่วนธาตุอาหารรองได้แก่อาหารซึ่งสาหร่ายต้องการใช้น้อย มักมีหน่วยเป็นมิลลิกรัม ธาตุอาหารรองเป็นส่วนประกอบของโมเลกุลที่จำเป็น เช่น เอนไซม์ เป็นปัจจัยที่เกี่ยวกับการเจริญเติบโตหรือเป็นส่วนประกอบของโมเลกุลของเอนไซม์ที่สำคัญบางชนิด ปริมาณของธาตุอาหารรองซึ่งจำเป็นต้องใช้เตรียมสารอาหาร (media) ของสาหร่ายได้แสดงไว้ในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ธาตุอาหารที่พืชต้องการใช้เรียงลำดับตามปริมาณที่เดิมในสารอาหารจากมากไปน้อย

(ที่มา : Aaronson, 1970 อ้างโดย Kaplan *et al.*, 1986)

ธาตุ	สารประกอบ	ปริมาณสารอาหาร 1 ลิตร
คาร์บอน	CO_2 , HCO_3^- , CO_3^{2-} โมเลกุลอินทรีย์	กรัม
ออกซิเจน	O_2 , H_2O โมเลกุลอินทรีย์ หรือไฮโดรเจนซัลไฟด์(H_2S)	กรัม
ไฮโดรเจน	H_2O โมเลกุลอินทรีย์ หรือไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S)	กรัม
ไนโตรเจน	N_2 , NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- กรดอะมิโน ยูเรีย ฯลฯ	กรัม
โซเดียม	ในรูปเกลืออินทรีย์ เช่น NaCl , Na_2SO_4 , Na_3PO_4	กรัม
โปแตสเซียม	ในรูปเกลืออนินทรีย์ เช่น KCl , K_2SO_4 , K_3PO_4	กรัม
แคลเซียม	ในรูปเกลืออนินทรีย์ เช่น CaCO_3 , Ca^{2+} (เช่นคลอไรด์)	กรัม
ฟอสฟอรัส	ในรูปเกลืออนินทรีย์ของธาตุโซเดียมหรือโปแตสเซียม ฟอสเฟตโซเดียมหรือฟอสเฟต (ชนิดมีน้ำ)	กรัม
ซัลเฟอร์	ในรูปเกลืออนินทรีย์ เช่น $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ กรดอะมิโน	กรัม
แมกนีเซียม	ในรูปเกลืออนินทรีย์ เช่น CO_3^{2-} , SO_4^{2-} หรือ Cl^- salts	กรัม
คลอรีน	ในรูปเกลือของธาตุ Na^+ , K^+ , Ca^{2+} หรือ NH_4^+ salts	กรัม
เหล็ก	FeCl_3 , $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ เฟอร์ริคซิเตรต	มิลลิกรัม
สังกะสี	SO_4^{2-} หรือ Cl^- salts	มิลลิกรัม
แมงกานีส	SO_4^{2-} หรือ Cl^- salts	มิลลิกรัม
โบรไมด์	Na^+ , K^+ , Ca^{2+} หรือ NH_4^+ salts	มิลลิกรัม
ซิลิกา	$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	มิลลิกรัม
โบรอน	H_3BO_3	มิลลิกรัม
โมลิบดีนัม	Na^+ หรือ NH_4^+ molybdate salts	ไมโครกรัม
วานาเดียม	$\text{Na}_3\text{CO}_4 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$	ไมโครกรัม
สตรอนเทียม	SO_4^{2-} หรือ Cl^- salts	ไมโครกรัม
อะลูมิเนียม	SO_4^{2-} หรือ Cl^- salts	ไมโครกรัม
ลิเทียม	SO_4^{2-} หรือ Cl^- salts	ไมโครกรัม
รูบิเดียม	SO_4^{2-} หรือ Cl^- salts (Rb_2SO_4 , RbCl)	ไมโครกรัม
ทองแดง	SO_4^{2-} หรือ Cl^- salts	ไมโครกรัม
โคบอลต์	วิตามิน บี 12, SO_4^{2-} หรือ Cl^- salts	ไมโครกรัม
ไอโอดีน	Na^+ , K^+ , Ca^{2+} หรือ NH_4^+ salts	ไมโครกรัม
เซเลเนียม	Na_2SeO_3	นาโนกรัม (ng)

(1) ธาตุอาหารหลัก (Macronutrients) ประกอบด้วยธาตุต่อไปนี้

ก. คาร์บอน คาร์บอนที่พืชนำไปใช้แบ่งออกได้ 2 ประเภท คือ อนินทรีย์คาร์บอน และอินทรีย์คาร์บอน สาหร่ายใช้คาร์บอนประเภทอนินทรีย์ในรูปของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งละลายได้ในน้ำหรือในรูปของเกลือคาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต การที่คาร์บอนจะอยู่ในรูปใดนั้นขึ้นอยู่กับระดับของ pH เช่น อยู่ในรูปของเกลือไบคาร์บอเนตเมื่อ pH มีค่าระหว่าง 7-9 อยู่ในรูปของเกลือคาร์บอเนตเมื่อ pH มีค่าสูงกว่า 9.5 ขึ้นไป คาร์บอนจะอยู่ในรูปของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เมื่อน้ำมีสภาพเป็นกรดหรือ pH มีค่าประมาณ 5 สาหร่ายจะใช้คาร์บอนประเภทอินทรีย์ในรูปของสารประกอบอินทรีย์ซึ่งช่วยการเจริญเติบโต เช่น น้ำตาลชนิดต่าง ๆ (ซูโครส, กลูโคส, กาแลคโตส ฯลฯ) ความต้องการชนิดรวมทั้งปริมาณของสารประกอบคาร์บอนจะแตกต่างกันตามชนิดของสาหร่าย โดยทั่วไปสาหร่ายต้องการอนินทรีย์คาร์บอนในสภาพไร้อากาศ (anaerobic condition) หรือในสถานที่ไม่มีแสงสว่าง

ข. ไนโตรเจน ไนโตรเจนมีความสำคัญรองจากคาร์บอนในแง่ของปริมาณ ปริมาณไนโตรเจนของพืชมีปริมาณร้อยละ 7-10 ของน้ำหนักแห้งของเซลล์ ยกเว้นไดอะตอม ซึ่งมีปริมาณไนโตรเจนน้อยกว่าสาหร่ายกลุ่มอื่น เนื่องจากซิลิกาเป็นธาตุที่สำคัญของผนังเซลล์ไดอะตอม ในสาหร่ายที่ขาดไนโตรเจนจะสร้างสารประกอบคาร์บอน เช่น น้ำมัน หรือแป้งมาทดแทนสาหร่ายสามารถใช้ไนโตรเจนทั้งในรูปอนินทรีย์และอินทรีย์ อีกทั้งยังสามารถใช้ในไนโตรเจนในรูปของแก๊สได้อีกด้วย แต่มีสาหร่ายบางชนิดเท่านั้น ได้แก่ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ ไนโตรเจนในรูปสารอนินทรีย์ได้แก่ เกลือ 3 ชนิด คือไนเตรต ไนไตรท์ และแอมโมเนีย ถ้าแหล่งไนโตรเจนอยู่ในรูปของเกลือแอมโมเนียเพียงอย่างเดียวจะทำให้ระดับของ pH ของอาหารลดต่ำอย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นอันตรายต่อสาหร่าย ไนไตรท์เป็นสารละลายอนินทรีย์ซึ่งพืชหลายชนิดต้องการใช้ในปริมาณไม่เกิน 1 มิลลิโมลล์ ถ้ามากกว่านี้จะทำให้เกิดอันตราย ส่วนสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนที่พืชนำไปใช้ได้แก่ ยูเรีย เอไมด์ (amide) กลูตามีน (glutamine) และแอสพาราจีน (asparagine) ซึ่งจัดว่าเป็นแหล่งไนโตรเจนชนิดดี ส่วนสารอินทรีย์ไนโตรเจนชนิดอื่น ได้แก่ กรดอะมิโน (โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดไกลซีน เซรีนอะลานีน) กรดกลูตามิก และกรดแอสพาร์ติกนั้น สาหร่ายต้องการใช้เพื่อการเติบโตซึ่งจะแตกต่างกันตามชนิด ถ้าสาหร่ายขาดไนโตรเจนจะมีผลต่อการสังเคราะห์แสง และปริมาณรงควัตถุหรือสารสี (pigments) ของเซลล์ รวมทั้งทำให้กิจกรรมของเอนไซม์บางชนิดลดลงด้วย

ค. ฟอสฟอรัส เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช เพราะมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการต่าง ๆ ของเซลล์ โดยเฉพาะกระบวนการถ่ายเทพลังงาน และกระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิก แม้ว่าในแหล่งน้ำธรรมชาติจะมีปริมาณสารอินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงกว่าอนินทรีย์ฟอสฟอรัส แต่พืชต้องการใช้ฟอสฟอรัสในรูปของสารอนินทรีย์มากกว่า ฉะนั้นสารอินทรีย์ฟอสฟอรัสจึงจัดว่าเป็นแหล่งเบื้องต้นของฟอสฟอรัสซึ่งจะแตกตัวเป็นสารอนินทรีย์ ได้แก่ ฟอสฟอรัส และออร์โทฟอสเฟต หรือ ฟอสเฟต โดยอาศัยเอนไซม์ที่เรียกว่าฟอสฟาเทสหรือฟอสโฟเอสเทอเรสในประมาณ 20 ไมโครกรัมต่อลิตร ทั้งนี้ปริมาณอาจสูงกว่าหรือต่ำกว่านี้ก็ได้ขึ้นอยู่กับปริมาณฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำ ระดับ pH และปริมาณของธาตุอาหารชนิดอื่น ได้แก่ โซเดียม โพแทสเซียม หรือแมกนีเซียม ถ้าสาหร่ายขาดฟอสฟอรัสจะมีผลต่อการเจริญเติบโต คือปริมาณ

โปรตีน รง คิวตินคลอโรฟิลล์-เอ RNA และ DNA จะลดลง แต่แป้งหรือคาร์โบไฮเดรตกลับเพิ่มขึ้นซึ่งมีผลทำให้รูปร่างเซลล์เปลี่ยนแปลงไป จากเดิม

ง. ซัลเฟอร์ เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อสาหร่ายทุกชนิด ซัลเฟอร์ในเซลล์สาหร่ายมีหลายรูปแบบ เช่น ในรูปของกรดอะมิโน ไบโตามีน บี กรดแพนโทเทนิก กรดลิโพอิก ฯลฯ ซัลเฟอร์ที่สาหร่ายส่วนใหญ่ใช้อยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ ได้แก่ เกลิอของโลหะ คือซัลเฟต ซัลไฟท์ และซัลไฟด์

จ. แคลเซียม เป็นธาตุอาหารจำเป็นต่อการเติบโตของสาหร่าย เช่น สาหร่ายสีเขียวบางชนิด สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและไดอะตอม สันนิษฐานว่าแคลเซียมมีส่วนเกี่ยวข้องกับการสร้างเกล็ด (scale) และโครงสร้างของสาหร่าย โดยเฉพาะสาหร่ายน้ำเค็ม หรือมีบทบาทสำคัญในการสร้างผนังของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ ปริมาณแคลเซียมที่พืชต้องการขึ้นอยู่กับปริมาณของธาตุอาหารชนิดอื่นด้วย เช่น แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี โคบอลท์ ทองแดง โมลิบดีนัม นิกเกิล อะลูมิเนียม โซเดียม โปรท เงิน ตะกั่ว ฯลฯ

ฉ. โซเดียม โปแตสเซียม และคลอรีน โซเดียมเป็นธาตุอาหารที่สาหร่ายบางชนิดต้องการ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินต้องการโซเดียมในปริมาณมากกว่าสาหร่ายกลุ่มอื่นที่อยู่ในน้ำจืด โซเดียมเป็นธาตุอาหารที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับกิจกรรมของเอนไซม์หลายชนิด และพืชสามารถใช้โซเดียมทดแทนโปแตสเซียมในกรณีที่แหล่งน้ำขาดธาตุโลหะชนิดนี้

โปแตสเซียมเป็นธาตุอาหารที่เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์หลายชนิด อัตราส่วนของโซเดียมและโปแตสเซียมจะมีผลต่อการใช้คลอรีนของสาหร่าย

ช. แมกนีเซียม แมกนีเซียมเป็นธาตุอาหารที่มีส่วนสำคัญอย่างยิ่งต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์

(2) ธาตุอาหารรอง (Micronutrients)

เป็นธาตุอาหารซึ่งสาหร่ายต้องการใช้ปริมาณน้อยหรือน้อยมาก ปริมาณที่ใช้เพียงมิลลิกรัมต่อลิตร ธาตุอาหารรองแบ่งย่อยออกได้อีก 2 ประเภทคือ ธาตุอาหารรองอนินทรีย์ และธาตุอาหารรองอินทรีย์ ได้แก่ เหล็ก โบรอน แมงกานีส ทองแดง สังกะสี โมลิบดีนัม วานาเดียม (Vanadium) โคบอลท์ นิกเกิล ซีลีเนียม และเซลเลเนียม (Selenium)

- ธาตุอาหารรองอนินทรีย์ (Inorganic micronutrients)

ก. เหล็ก เป็นธาตุอาหารที่ช่วยการดูดซึมไนโตรเจนและขบวนการสังเคราะห์แสง คือช่วยสร้างสารสีเขียวชนิดคลอโรฟิลล์-เอ และสารสีน้ำเงินชนิด ซี-ไฟโคไซยานิน ถ้าสาหร่ายขาดธาตุเหล็กจะมีผลต่อการเติบโตและสีของเซลล์

เหล็กเป็นธาตุที่มีจะตกตะกอนในสารละลาย ฉะนั้นจึงต้องใส่สารที่ป้องกันการตกตะกอนที่เรียกว่า คีเลเตอร์หรือ Chelating agent เหล็กที่ให้อาจอยู่ในรูปของสารประกอบ เช่น $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ แต่จะดูไม่นำมาให้อาหารเสื่อมคุณภาพ ฉะนั้นจึงนิยมใช้สารประกอบพวกเหล็กอีดีทีเอ (FeEDTA) แทน เพราะมีคุณสมบัติคงรูปดี มีสารประกอบบางชนิด เช่น $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ซึ่งคงรูปดีกว่าเหล็กอีดีทีเอ แต่ต้องมีเทคนิคในการเตรียมต้องละลายเกล็ดชนิดนี้ในกรดซัลโฟซาลิไซลิก (Sulfosalicylic acid) เสียก่อน โดยใช้กรดความเข้มข้น 0.5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) แต่ไม่ว่าจะใช้คีเลเตอร์ตัวใดก็ตามอัตราส่วนของคีเลเตอร์กับเหล็กจะต้องเท่ากับ 1.1

(molar ratio) เสมอ และในทางปฏิบัติจะนิยมเติมสารคีเลเตอร์ให้เกินปริมาณที่กำหนดเล็กน้อย เพื่อช่วยให้เกิดปฏิกิริยาเล็กน้อย เพื่อช่วยให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ เช่น ใช้สาร คีเลเตอร์ในอัตราส่วน 1.5-3:1 เป็นต้น คีเลเตอร์ที่นิยมใช้มีหลายชนิด ได้แก่

- อีดีทีเอ (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) นิยมใช้เติมอาหารที่เลี้ยงสาหร่ายทะเล
- Sodium hydroxy ethylene diamine triacetate เหมาะอย่างยิ่งกับอาหารที่ต้องการให้สภาพเป็นด่างเพราะคีเลเตอร์ชนิดนี้เมื่อละลายน้ำจะมีค่า pH เท่ากับ 11.4 ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับเหล็กแล้วจะคงรูปดีกว่าอีดีทีเอ
- Nitriolotriacetic acid หรือ NTA เป็นคีเลเตอร์ที่มีประสิทธิภาพด้อยกว่าอีดีทีเอ แต่สามารถใช้ร่วมกับกลีเซโรฟอสเฟตได้ดี
- กรดน้ำส้ม (citric acid) เป็นคีเลเตอร์ที่แทน NTA ได้นิยมใช้เติมในอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายทะเล

ข. โบรอน เป็นธาตุอาหารที่สาหร่ายบางชนิดต้องการใช้ ได้แก่ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และไดอะตอม โดยเฉพาะไดอะตอมน้ำเค็ม

ค. แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี เป็นธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบสำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย รวมทั้งเป็นองค์ประกอบที่จำเป็นของเอนไซม์อีกหลายชนิด ถ้าขาดจะทำให้กระบวนการสังเคราะห์แสงลดลงและการหายใจเพิ่มขึ้น ธาตุอาหารทั้งสามชนิดนี้ถ้ามีมากเกินไปสาหร่ายจะตาย

ง. โมลิบดีนัม วานาเดียม โคบอลต์ และนิกเกิล โมลิบดีนัมมีบทบาทสำคัญในการตรึงไนโตรเจนในพวกรูปร่างสีเขียวแกมน้ำเงิน เวลาใช้เลี้ยงสาหร่ายจะอยู่ในรูปของเกลือ นอกจากนี้โมลิบดีนัมยังเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ที่ช่วยในการสังเคราะห์แสง วานาเดียมเป็นธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายบางชนิด เช่น *Spirulina* และ วานาเดียมสามารถใช้ทดแทนโมลิบดีนัมเพื่อการตรึงไนโตรเจน โคบอลต์เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของวิตามินบี 12 ซึ่งสำคัญมากต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายหลายชนิด นิกเกิลเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการสังเคราะห์ยูเรียของสาหร่ายบางชนิด เช่น ไดอะตอม (*Phaeodactylum tricornutum*) และสาหร่ายสีเขียว (*Tetraselmis subcordiformis*)

จ. ซิลิกา เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นที่สุดของพวกไดอะตอมเพื่อสร้างผนังเซลล์ ส่วนสาหร่ายชนิดอื่นไม่จำเป็นต้องใช้ปริมาณของซิลิกาในแหล่งน้ำธรรมชาติแตกต่างกันตามฤดูกาล เช่น ในขณะที่มีไดอะตอมเกิดขึ้นจำนวนมากหรือเกิดการบลูมปริมาณของซิลิกาในน้ำจะลดลงไป ซิลิกาจะอยู่ในรูปของ silicate/silica ซึ่งอาจมีปริมาณสูงสุดถึง 430 มิลลิกรัม/ลิตร ในน้ำทะเลและ 77 มิลลิกรัม/ลิตรในน้ำจืด ไดอะตอมต้องการปริมาณซิลิกาแตกต่างกันตามชนิด เช่น *Nitzschia palea* ต้องการมากกว่า 25 มิลลิกรัม/ลิตร ส่วน *Asterionella formosa* ต้องการใช้เพียง 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร

ฉ. เซเลเนียม บทบาทของของธาตุอาหารชนิดนี้ต่อการเลี้ยงสาหร่ายยังไม่เป็นที่เข้าใจมากนัก แต่มีข้อสังเกตจากการทดลองว่าปริมาณของเซเลเนียมที่เติมในแหล่งน้ำจะสามารถเปลี่ยนองค์ประกอบชนิดของสาหร่าย ถ้าปริมาณเซเลเนียมเพิ่มขึ้นจะมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพิ่มขึ้นและไดอะตอมจะลดปริมาณลง

สาหร่ายบางชนิดต้องการใช้เซลล์เย็บเพื่อการเจริญเติบโต เช่น *Peridinium cinctum* ซึ่งเป็นไดโนแฟลกเจลเลตน้ำจืด เป็นต้น

- ธาตุอาหารรองอินทรีย์ (Organic micronutrients) ธาตุอาหารประเภทนี้อาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า แร่ธาตุ ที่จำเป็น (trace metals) ซึ่งแบ่งย่อยออกไปได้อีก 4 กลุ่มดังนี้

- กลุ่มที่ 1 : คาร์โบไฮเดรต ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เช่น เดกซ์โตรส ความเข้มข้นที่ใช้ 0.2-0.5% ควรเติมน้ำในอาหารเลี้ยงสาหร่ายหลังจากการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วมีจะนั้นน้ำตาลจะสลายตัว

- กลุ่มที่ 2 : เกลืออินทรีย์หรือสารประกอบที่มีเกลืออินทรีย์ ได้แก่ เกลือ อะซิเตท เช่น โซเดียมอะซิเตท โพแทสเซียมอะซิเตท ความเข้มข้นที่ใช้ 0.1-0.5%

- กลุ่มที่ 3 : ไบโตามีน ได้แก่ ไบโตามีนบี 3 ชนิด คือ บี 1 บี 12 และบีรวม นิยมเติมในอาหารหลังจากผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

- กลุ่มที่ 4 : อาหารเสริม ได้แก่ อาหารที่ช่วยการเจริญเติบโตของสาหร่าย คือ เป็น growth factor ตัวอย่างเช่น อะเดนิน (adenin) ไคเนติน (kinetin) ทั้ง 2 ชนิดนี้จะละลายในน้ำได้เล็กน้อยแต่ละลายได้ดีในสารละลายโซเดียมโบคาร์บอเนต อาหารเสริมอีก 2 ชนิดที่นิยมใช้คือ gibberellic acid ละลายในน้ำได้ดี และ indol acetic acid (IAA) มีคุณสมบัติละลายได้เล็กน้อยในน้ำร้อนและสลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกแสงสว่าง

ลักษณะของสาหร่ายที่ขาดธาตุอาหาร สามารถสรุปได้ 3 ประการ ดังนี้

1. ปริมาณรงควัตถุสำหรับใช้ในอาหารสังเคราะห์แสงลดลง เช่น ถ้าขาดธาตุอาหาร ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ ซิลิกา แมกนีเซียม เหล็ก โพแทสเซียม และโมลิบดีนัม จะทำให้สีของเซลล์ซีดลง

2. เซลล์มีการสะสมอาหารเพิ่มขึ้นกว่าปกติ เช่น สะสมแป้ง ไชมัน โปรตีน การสะสมแป้งหรือแป้งกับไขมันจะเกิดขึ้นเมื่อสาหร่ายขาดธาตุอาหารบางชนิดหรือหลายชนิด

3. เซลล์มีการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกและโปรตีนลดลง ทั้งนี้เป็นผลต่อเนื่องจากการที่เซลล์มีการสะสมแป้งหรือไขมันเพิ่มขึ้น

5.10 วิธีวัดการเจริญเติบโตและชีวมวล (Growth and biomass measurements)

มีหลายวิธีด้วยกันดังนี้

1. การนับเซลล์ (Cell counts)

เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากในการวัดการเติบโตของสาหร่าย อุปกรณ์ที่ใช้คือกล้องจุลทรรศน์หงายกลับ (inverted microscope) และสไลด์นับเซลล์ (counting slide or counting chamber) สไลด์มีหลายชนิดให้เลือกใช้ตามความหนาแน่นของตัวอย่างและขนาดของเซลล์ในตัวอย่างที่นับ ชนิดที่นิยมใช้คือ Sedgwick-Rafter counting chamber ความจุ 1 มิลลิลิตร Palmer Maloney chamber ความจุ 0.1 มิลลิลิตร และสไลด์นับเม็ดเลือด (haematometer หรือ haemocytometer) ความจุ 0.004 มิลลิลิตร ดังรายละเอียดในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ชนิดของสไลด์นับเซลล์และคุณสมบัติของสไลด์นับเซลล์

(ที่มา : Vonshak, 1986)

ชื่อทางการค้า	ความจุ (มิลลิลิตร)	ความลึก ของสไลด์ (มิลลิเมตร)	เลนส์วัตถุ ที่ควรใช้ ในการนับ	ช่วงขนาดเซลล์ ที่เหมาะสม (ไมครอน)	ช่วงความ หนาแน่น ของเซลล์ ที่นับได้สะดวก (เซลล์)
Sedgwick-Rafter Counting Chamber	1.0	1.0	2.5-1.0	50-100	$30 \cdot 10^4$
Palmer Maloney chamber	0.1	0.4	10-45	5-150	$10^2 \cdot 10^5$
Speirs Levy haematocytometer	0.004	0.2	10-20	5-75	$10^4 \cdot 10^7$
Improved Neubauer chamber	0.002	0.1	20-40	2-30	$10^6 \cdot 10^7$

ก่อนการนับเซลล์โดยการใช้นับเซลล์ควรล้างสไลด์ให้สะอาดและเช็ดให้แห้ง ตัวอย่างที่จะนับควร
ดองด้วยน้ำยาฟอรัมาลิน 4% หรือน้ำยาลูกลอกเสียก่อน หยดตัวอย่างบนสไลด์ ครอบคลุมแผ่นกระจก (cover
glass) โดยเร็ว และระวังไม่ให้มีฟองอากาศในช่องใส่ตัวอย่าง รอให้เซลล์ตกตะกอนบนสไลด์ซึ่งใช้เวลา
ประมาณ 4-6 นาที ฉะนั้นควรมีสไลด์นับเซลล์ 2 ชุด เพื่อจะได้ไม่เสียเวลาคอยระหว่างรอให้เซลล์ตกตะกอน
ก่อนนับควรตรวจดูด้วยกำลังขยายต่ำเพื่อสำรวจว่าเซลล์มีการกระจายตัวสม่ำเสมอหรือไม่ หรือความหนาแน่น
ของเซลล์มากจนนับไม่สะดวก เพื่อจะได้เตรียมสไลด์นับเสียใหม่

อุปกรณ์นับเซลล์อีกชนิดหนึ่ง เรียกว่าเครื่องนับโคล์เตอร์ (Coulter counter) เป็นอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์
ที่นิยมใช้นับเซลล์ของสาหร่ายชนิดไม้เป็นเส้น แต่เซลล์ที่นับควรมีรูปร่างกลม เพราะเครื่องมือชนิดนี้ไม่สามารถ
ตรวจสอบเซลล์รูปร่างชนิดอื่นได้ แม้ว่าอุปกรณ์ชนิดนี้ทำงานได้รวดเร็วแต่ราคาแพงมาก และผู้ใช้ต้องระมัดระวัง
ในการใช้ รวมทั้งต้องหมั่นทำความสะอาดเครื่องอยู่เสมอเพื่อให้เครื่องทำงานได้อย่างถูกต้อง

2. การวัดการกระจายของแสงหรือความขุ่น (Light scattering or turbidity)

เป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุดในการวัดการเจริญเติบโตของเชื้อสาหร่ายบริสุทธิ์ ข้อดีของวิธีนี้ คือ วัด
ง่ายและสะดวกข้อมูลที่ได้เป็นค่าของชีวมวล (biomass) ที่เพิ่มขึ้นโดยวัดจากค่าความขุ่นของเซลล์ อุปกรณ์ที่ใช้
เรียกว่า colorimeter หรือสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ถ้าจำนวนเซลล์ไม่หนาแน่นนักจำนวนเซลล์จะมีความสัมพันธ์
แบบเรขาคณิตกับความเข้มของแสง กล่าวคือความเข้มของแสงจะลดลงเมื่อจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น

3. การวัดน้ำหนักแห้ง (Dry weight measurement)

เหมาะกับสาหร่ายชนิดที่ไม่ใช่เซลล์เดี่ยวที่นับจำนวนเซลล์ไม่ได้ ฉะนั้นจึงนิยมใช้กับสาหร่ายที่เป็น
เส้น วิธีวัดจะวัดทุกวันแล้วนำผลมาพล็อตกราฟ เริ่มการวัดโดยเก็บตัวอย่างจากภาชนะเลี้ยงก่อนเก็บควรทวน
ตัวอย่างให้เข้ากันดีเสียก่อนกรองสาหร่ายออกจากน้ำโดยการปั่นให้ตกตะกอน (centrifugation) รินน้ำใส ๆ
ข้างบนออก นำตัวอย่างไปอบให้แห้ง ถ้าใช้เครื่องกรอง (membrane filter) ควรล้างสาหร่ายบนแผ่นกรองให้
สะอาดปลอดจากเกลือหรือสิ่งปนเปื้อนด้วยสารอาหารอย่างเจือจางหรือน้ำกลั่นที่เป็นกลาง ไม่ควรล้างสาหร่าย

น้ำเค็มด้วยน้ำกลั่นเพราะจะทำให้เซลล์แตก อุณหภูมิที่ใช้อบแห้งประมาณ 70-110°C นานประมาณ 10-12 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะคงที่ นำแผ่นกรองออกจากตู้อบแล้วให้นำไปใส่โถดูดความชื้น (desiccator) นาน 15-30 นาที (ถ้าใส่แผ่นกรองหรือเยื่อกรองในหลอดแก้วควรนำหลอดแก้วเข้าตู้อบพร้อมตัวอย่างด้วย) รายงานผลเป็น น้ำหนักแห้ง/ปริมาตร หรือพื้นที่ของน้ำที่ทำการเก็บตัวอย่างของสาหร่าย

4. การวัดคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll determination)

เป็นวิธีวัดชีวมวลที่รวดเร็ว มีวิธีดังนี้ เริ่มแรกให้เก็บตัวอย่างจากภาชนะเลี้ยง กรองเซลล์หรือแยก ออกโดยการปั่นให้ตกตะกอน ต่อจากนั้นจึงสกัดสารสี (pigment) โดยเติมสารละลายเคมี ชนิดที่นิยมใช้มี หลายชนิด ได้แก่ อะซิโตน เมทานอล อีเธอร์ เมื่อสกัดสารสีออกจากเซลล์แล้วให้กรองอีกครั้งหนึ่งเพื่อกำจัด ตะกอนหรือสิ่งปนเปื้อนออกให้หมด นำสารละลายที่กรองได้ใส่ในหลอดแก้วที่สะอาดสำหรับวัดค่าคลอโรฟิลล์ เซลล์สาหร่ายแต่ละชนิดมีคลอโรฟิลล์แตกต่างกันไป ซึ่งแบ่งออกได้ 3 ชนิด คือ คลอโรฟิลล์-เอ -บี และ -ซี ทั้งนี้ผู้วัดต้องเลือกใช้ความยาวคลื่นแสงให้เหมาะสมกับชนิดสาหร่ายที่จะวัด สูตรการคำนวณค่าคลอโรฟิลล์แต่ละชนิดมีดังนี้

$$\text{Chl}_a(\text{mg/l}) = 11.64 \text{ OD}_{663} - 2.16 \text{ OD}_{645} - 0.10 \text{ OD}_{630}$$

$$\text{Chl}_b(\text{mg/l}) = 20.79 \text{ OD}_{645} - 3.94 \text{ OD}_{663} - 3.66 \text{ OD}_{630}$$

$$\text{Chl}_c(\text{mg/l}) = 54.22 \text{ OD}_{630} - 14.81 \text{ OD}_{645} - 5.53 \text{ OD}_{663}$$

สูตรการคำนวณดังกล่าวเป็นสูตรที่ UNESCO แนะนำให้ใช้ ซึ่งจะแตกต่างจากสูตรอื่นบ้าง เพียงเล็กน้อย เช่น

$$\text{Chl}_a = 11.85 \text{ OD}_{664} - 1.54 \text{ OD}_{647} - 0.08 \text{ OD}_{630}$$

$$\text{Chl}_b = 21.03 \text{ OD}_{647} - 5.43 \text{ OD}_{664} - 2.66 \text{ OD}_{630}$$

$$\text{Chl}_c = 24.52 \text{ OD}_{630} - 7.60 \text{ OD}_{647} - 1.67 \text{ OD}_{664}$$

ค่า OD 663 – 664, OD 654-647 และ OD 630 เป็นค่าแก้ความหนาแน่นของคลื่นแสง (optical density) ของคลอโรฟิลล์-เอ คลอโรฟิลล์-บี และคลอโรฟิลล์-ซี ตามลำดับ

บทที่ 6

วิธีการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

การเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชหรือสาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) เพื่อใช้ประโยชน์ในด้านวิทยาศาสตร์พื้นฐาน ได้นิยมทำกันมานานแล้ว โดยเลี้ยงกันในห้องปฏิบัติการซึ่งต้องการปริมาณไม่มากนัก แต่การเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเพื่ออนุบาลลูกสัตว์น้ำได้เริ่มเลี้ยงกันอย่างจริงจังเมื่อประมาณ 50 ปีมาแล้ว หลังจากที่ได้มีนักเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชาวญี่ปุ่นชื่อ มัตซึเอะ (Matsue) สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ไดอะตอมชนิดหนึ่งคือ สเกลีโตนีมา คอสเตตัม (*Skeletonema costatum*) สำหรับใช้ออนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อนได้สำเร็จในปี พ.ศ. 2484 ตั้งแต่นั้นเป็นต้นมาได้มีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชอีกหลายชนิดสำหรับใช้ออนุบาลลูกสัตว์น้ำชนิดอื่น เช่น ปลาบู่ หอย เป็นต้น (สุนีย์, 2514, 2519; โชติมา และคณะ, 2531)

แพลงก์ตอนพืชที่นิยมเลี้ยงสำหรับอนุบาลลูกสัตว์น้ำมีหลายชนิดเช่น เตตราเซลมีส (*Tetraselmis* sp.) ไอโซโคริซิส (*Isochrysis* sp.) คลอเรลลา (*Chlorella* sp.) สเกลีโตนีมา (*Skeletonema costatum*) คีโตเซอรอส คาลซิแทรนซ์ (*Chaetoceros calcitrans*) ส่วนรายชื่อชนิดแพลงก์ตอนพืชหรือสาหร่ายที่ใช้ออนุบาลลูกกุ้ง ได้แสดงไว้ในตารางที่ 7 และภาพที่ 4

6.1 วิธีการเลี้ยง

วิธีการเลี้ยงแพลงก์ตอน Liao, Su and Lin (1983) ได้แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ

วิธีรวมถัง เป็นวิธีผลิตแพลงก์ตอนพืชปริมาณมากและเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชถึงเดียวกับลูกสัตว์น้ำ โดยการใส่ปุ๋ยลงไปในบ่อเลี้ยงโดยตรง วิธีนี้เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า วิธีเลี้ยงกลางแจ้ง (outdoor method)

วิธีแยกถัง เป็นวิธีใช้ผลิตแพลงก์ตอนปริมาณน้อย หรือเรียกอีกชื่อว่า วิธีในร่ม (indoor method) วิธีนี้อาจเลี้ยงแพลงก์ตอนชนิดเดียวหรือหลายชนิดก็ได้แต่แยกเลี้ยงคนละถังกับลูกสัตว์น้ำ

วิธีเลี้ยงแบบแยกถังมีข้อดี คือ ใช้เนื้อที่น้อยแต่ผลิตแพลงก์ตอนพืชที่นำไปเลี้ยงลูกสัตว์น้ำได้จำนวนมาก ส่วนวิธีเลี้ยงแบบรวมถังนั้นเป็นวิธีที่ง่าย ใช้แรงงานน้อย และไม่จำเป็นต้องใช้เชื้อแพลงก์ตอนมาก เมื่อจะเปรียบเทียบว่าวิธีเลี้ยงแบบใดให้ผลดีที่สุดรวมทั้งเสียค่าใช้จ่ายน้อยที่สุดนั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยอีกหลายอย่าง เช่น ความต้องการของผู้เลี้ยงและความเหมาะสมในการหาวัตถุดิบสำหรับการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนชนิดที่ต้องการ เป็นต้น

ตารางที่ 7 ชนิดของแพลงก์ตอนพืชที่นิยมเลี้ยงเพื่ออนุบาลลูกสัตว์น้ำในปัจจุบัน

วงศ์ (Family)	ชื่อวิทยาศาสตร์
Bacillariophyceae	<i>Skeletonema costatum</i> , <i>Thalassiosira</i> sp., <i>Chaetoceros calaitrans</i> , <i>Cyclotella</i> sp.
Prymnesiophyceae	<i>Isochrysis galbana</i>
Prasinophyceae	<i>Tatraselmis (Platymonas) suecica</i> , <i>T. (P.) chuii</i>
Chlorophyceae	<i>Dunaliella tertiolecta</i> , <i>Chlorella</i> sp., <i>Scenedesmus</i> sp., <i>Chlamydomonas</i> sp.
Cyanophyceae	<i>Spirulina platensis</i>

1. วิธีเลี้ยงแบบรวมถัง

1.1 ชนิดของถังเลี้ยงและการขยายจำนวนแพลงก์ตอนพืช

นิยมใช้ถังซีเมนต์รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าความจุตั้งแต่ 15-250 ตัน (1 ตัน = 1,000 ลิตร) อาจใช้ถังไฟเบอร์กลาสทรงกลม หรือถังโลหะเคลือบด้วยวัสดุไวโนลแทนก็ได้ แต่ไม่ว่าจะใช้ถังเลี้ยงแบบใด ต้องมีการให้อากาศในถังเลี้ยงด้วยทุกครั้ง โดยทั่วไปอย่างน้อยต้องมีแอร์สโตน 1 ลูกต่อเนื้อที่กันถึง 5 ตารางเมตร ขนาดถังที่นิยมใช้ทั่วไปคือขนาด 10 x 10 x 2 ม.³ พื้นกันถังควรมีความลาดเอียงไปทางท่อระบายน้ำทั้งในสัดส่วน 3/100 ถังเลี้ยงอาจไม่มีหลังคา หรือถ้ามีหลังคาควรใช้ชนิดหลังคาโปร่งแสง

ก่อนทำการเลี้ยงควรทำความสะอาดถังเสียก่อน เติมน้ำจืดหรือน้ำทะเลแล้วแต่ชนิดของแพลงก์ตอนพืชที่จะเลี้ยง ระดับน้ำลึกตั้งแต่ 0.6-2 เมตร การใส่น้ำอาจใส่ก่อนปล่อยแม่พันธุ์กุ้ง หรือใส่น้ำวันเดียวกันกับที่ปล่อยแม่พันธุ์กุ้ง ก็ได้ ก่อนใส่น้ำลงบ่อควรกรองน้ำเสียก่อนเพื่อกำจัดศัตรูของลูกกุ้งหรือขยะที่ติดมากับน้ำ ซึ่งอาจทำอันตรายและรบกวนการฟักตัวของไข่กุ้ง วัตถุดิบที่ใช้กรองน้ำได้แก่ทราย หรือผ้ากรองขนาดตา 80-100 ไมครอน ควรรักษาระดับน้ำในถังเป็นเวลา 5-7 วัน หรือจนกว่าลูกกุ้งจะโตถึงระยะโพสท์ลาร์วา จากนั้นจึงทำการเปลี่ยนน้ำด้วยน้ำทะเลใหม่ ๆ จำนวน 1/5 ของปริมาณน้ำทั้งหมด ถ้าไม่ทำการถ่ายน้ำตามวิธีที่กล่าวมาแล้ว อาจเติมน้ำทะเลปริมาณ 5 ตัน หรือระดับน้ำ 10 เซนติเมตร ในถังเลี้ยงตามวันที่กำหนดจนกว่าน้ำจะเต็มถึงต่อจากนั้นจึงค่อยเปลี่ยนถ่ายน้ำบางส่วนทุกวัน

1.2 การใส่ปุ๋ย

การขยายพันธุ์ไดอะตอมและการเลี้ยงเพื่อเก็บผลผลิตแพลงก์ตอนแบบต่อเนื่องในถังเลี้ยงลูกกุ้งเป็นสิ่งที่สำคัญมาก เพราะการขยายพันธุ์ไดอะตอมสามารถควบคุมได้โดยการปรับปริมาณและคุณภาพของปุ๋ยหรือโดยการปรับความเข้มแสงที่ให้

ปุ๋ยที่นิยมใช้คือโปแตสเซียมไนเตรตและไดเบสิคโปแตสเซียมฟอสเฟต ปริมาณที่ใช้คือโปแตสเซียมไนเตรตหนัก 200 กรัม และไดเบสิคโปแตสเซียมฟอสเฟตหนัก 20 กรัมต่อถังเลี้ยงความจุ 200 ตัน ใส่ปุ๋ยทุกวัน โดยเริ่มใส่ปุ๋ยในวันที่ถัดจากวันที่สังเกตเห็นลูกกุ้งระยะนอเพลียส และสามารถเติมปุ๋ยได้เรื่อยไปจนกว่าจะมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำในถังเลี้ยง เมื่อลูกกุ้งเจริญถึงระยะโพสท์ลาร์วา ปริมาณและคุณภาพของปุ๋ยอาจจะต้องมีการปรับบ้างเพื่อรักษาคุณภาพน้ำในบ่อ และเพื่อรักษาปริมาณไดอะตอมในถังให้มีมากสม่ำเสมอ

1.3 ชนิดแพลงก์ตอนพืชในถังเลี้ยง

โดยทั่วไปจะเกิดการบลูมของแพลงก์ตอนหลายชนิดเนื่องจากคุณภาพน้ำในถังและฤดูกาลที่ทำการเลี้ยง เคยพบไดอะตอมมากถึง 30 ชนิดในถังเลี้ยงเพียงถังเดียว ในจำนวนนี้ สเกลิโตนีมา (*Skeletonema*) เมโลซีรา (*Melosira*) ธาลาสซิโอซีรา (*Thalassiosira*) นิทซ์เชีย (*Nitzschia*) ไรโซโซลีเนีย (*Rhizosolenia*) เป็นไดอะตอมที่มีปริมาณสูงสุด ซึ่งจะไม่ก่อให้เกิดปัญหาแต่อย่างใด แต่ถ้าเมื่อใดก็ตามที่มีการบลูมของสาหร่ายสีเขียวลูกกุ้งจะตายจำนวนมาก วิธีแก้ไขในกรณีนี้ต้องใช้เชื้อบริสุทธ์ของไดอะตอม เช่น สเกลิโตนีมา และคิโตเซอรอส ใส่ลงในถังเลี้ยงลูกกุ้งเพื่อทำการขยายพันธุ์ใหม่

1.4 ความหนาแน่นของแพลงก์พืชที่เลี้ยง

การควบคุมความหนาแน่นของแพลงก์พืชในถังเลี้ยงด้วยวิธีเลี้ยงแบบรวมถังทำได้ไม่ยากนัก ปกติความหนาแน่นในระดับ 5×10^3 เซลล์/มิลลิลิตร นับว่าเพียงพอสำหรับเลี้ยงลูกกุ้ง แต่โรงเพาะฟักบางแห่งอาจใช้ความหนาแน่นสูงถึง 70×10^3 เซลล์/มิลลิลิตร ก็มี

เมื่อแพลงก์ตอนพืชมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นย่อมมีการตายและเกิดการนำเสียตามมา แต่ถ้าความหนาแน่นของเซลล์น้อยกว่า 100×10^3 เซลล์/มิลลิลิตร ถือว่ายังเป็นระดับที่จะไม่ทำให้เกิดอันตรายต่อลูกกุ้ง หากว่าระดับความหนาแน่นสูงกว่านี้อาจเกิดอันตรายต่อลูกกุ้งได้ โดยเฉพาะช่วงบ่าย เคยมีผู้รายงานเมื่อเกิดการบลูมของคิโตเซอรอส (*Chaetoceros gracilis*) สิ่งที่เกิดตามมามีดังนี้ (1) ความหนาแน่นของเซลล์ลดลงเป็นระยะ ๆ (2) เซลล์ไดอะตอมที่ยังมีชีวิตอยู่จะไม่แบ่งเซลล์ (3) เซลล์ไดอะตอมเริ่มแตก (4) การเจริญเติบโตหยุดชะงักลงโดยสิ้นเชิง เมื่อเกิดสภาพเช่นนี้ขึ้นเมื่อใด ไม่ว่าจะทำการแก้ไขด้วยวิธีใดก็ตาม (เช่น เติม EDTA สารละลายอาหาร เติมเชื้อบริสุทธ์ของไดอะตอม ใส่ไนโตรเจนในถังเลี้ยง หรือเพิ่มการให้อากาศ) ก็ไม่สามารถช่วยให้คิโตเซอรอสมีชีวิตอยู่ได้ นอกจากจะช่วยให้ชีวิตลูกกุ้งไวเท่านั้นเอง เนื่องจากการบลูมของแพลงก์ตอนพืชอาจต้องการเหล็ก (chelated iron) ดังนั้นจึงควรเติมเกลือของเหล็ก (ferric chloride) ในถังเลี้ยงทุกวัน

1.5 สรุป

ข้อดีของการเลี้ยงแบบรวมถังคือการนำสภาวะธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ให้มากที่สุด แต่ก็ไม่ละเลยสภาพแวดล้อมของท้องที่และอิทธิพลของฤดูกาลเสียทีเดียว ยิ่งกว่านั้นยังได้คำนึงถึงชนิดกุ้งที่นำมาเลี้ยงอีกด้วย โดยทั่วไปลูกกุ้งชนิด *Penaeus vannamei* และ *P. setiferus* สามารถเติบโตได้ดีด้วยวิธีนี้เมื่อเปรียบเทียบกับลูกกุ้งชนิด *P. japonicus* ข้อเสียของวิธีนี้คืออาจมีแพลงก์ตอนชนิดที่ไม่เหมาะสมที่จะเป็นอาหารลูกสัตว์น้ำปะปนมาด้วยทำให้การอนุบาลไม่ได้ผลตามที่ควร

2. วิธีเลี้ยงแบบแยกถัง

หลังจากที่การขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเลี้ยงแบบรวมถังได้ประสบผลสำเร็จอย่างงดงามแล้ว ได้นำแพลงก์ตอนพืชที่ใช้เป็นอาหารกุ้ง เช่น สเกลิโตนีมา (*Skeletonema costatum*) มาเลี้ยงด้วยวิธีแยกถัง ต่อจากนั้นก็ได้มีการทดลองเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่น ๆ อีกจนประสบผลสำเร็จสามารถนำมาใช้เลี้ยงลูกกุ้งได้ ได้แก่ เตตราเซลมิส (*Tetraselmis suecica*) คิโตเซอรอส (*Chaetoceros calcitrans*) ธาลาสซิโอซีรา (*Thalassiosira weissflogii*) และไซลินโดรทีคา (*Cylindrotheca* sp.)

6.2 อาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย (Enrichment media)

นิยมใช้น้ำทะเลธรรมชาติที่คูดจากบริเวณผิวน้ำสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชและเป็นน้ำเค็มเพื่ออนุบาลลูกกุ้ง แต่ในท้องที่ที่อยู่ห่างจากทะเลไม่สามารถนำน้ำทะเลธรรมชาติมาใช้ได้ ก็อาจใช้น้ำทะเลเทียมมาแทนได้โดยการนำสารเคมีมาผสมกับน้ำจืดตามสูตรน้ำทะเลเทียมซึ่งจะได้กล่าวต่อไป

ในกรณีที่ใช้น้ำทะเลธรรมชาติเพื่อเตรียมอาหาร ผู้เลี้ยงอาจเลือกใช้อาหารสูตรที่เหมาะสมแก่ชนิดแพลงก์ตอนพืชที่ต้องการเลี้ยงซึ่งประกอบด้วยสารอาหารชนิดต่าง ๆ ทั้งสารอนินทรีย์และอินทรีย์ (inorganic macronutrients, inorganic และ organic micronutrients) ดังได้แสดงไว้ในภาคผนวก สารอาหารหลักประเภทอนินทรีย์ (inorganic macronutrients) ประกอบด้วย ไนเตรต ฟอสเฟต ซิลิเกต ซิลิเกตเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการเติบโตของไดอะตอมโดยเฉพาะ หากเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชกลุ่มอื่นไม่ต้องใส่สารประกอบซิลิเกต สารอาหารรองชนิดอนินทรีย์ (inorganic micronutrients) ประกอบด้วยเฟอร์ริคลอไรด์ คีเลเตอร์ อีดีทีเอ รวมทั้งแร่ธาตุที่จำเป็น (trace metals) อีกหลายชนิด คีเลเตอร์เป็นสารที่ช่วยจับแร่ธาตุที่จำเป็นให้อยู่ในสารละลายอาหารเพื่อให้เซลล์พืชนำไปใช้ได้ และอีดีทีเอเป็นคีเลเตอร์ที่มีผู้นิยมใช้มากที่สุด คีเลเตอร์ชนิดอื่นได้แก่ VersonalTM กรดไนโตรไตรอะซิติก (nitritotriacetic acid หรือ NTA) และกรดน้ำส้ม (citric acid) สารอาหารรองชนิดอินทรีย์ (organic micronutrients) ที่ใช้กับน้ำทะเลธรรมชาติได้แก่ วิตามินต่างๆ เช่น วิตามินบี 1 (thiamine หรือ B₁) วิตามินบี 12 (cyanocobalamine) และวิตามินบีรวมหรือไบโอติน (biotin) สารอาหารประเภทนี้ไม่จำเป็นต้องใช้ถ้าเป็นการเลี้ยงแบบปริมาณมาก (mass culture) แต่ควรพิจารณาให้รอบคอบก่อนตัดออก เพราะอาจมีแพลงก์ตอนพืชบางชนิดจำเป็นต้องใช้

สารอาหารที่เตรียมโดยใช้น้ำทะเลสังเคราะห์ (synthetic seawater media) ประกอบด้วย น้ำกลั่นเกลือเคมี (artificial salts) และสารอาหารเสริม (enrichment nutrients) สูตรน้ำทะเลเทียมที่ใช้ได้ผลดีมีหลายสูตร เช่น สูตรของ Gates และ Wilson มีชื่อเรียกว่า NH medium ดังมีส่วนประกอบในการเตรียมอยู่ในตารางที่ 8 อีกสูตรหนึ่งที่นิยมใช้กันมากในวงการเพาะเลี้ยงเรียกว่า Instant OceanTM ดังมีสูตรส่วนประกอบแสดงไว้ในตารางที่ 9 หากไม่ต้องการผสมเองก็สามารถซื้อได้จากร้านค้าที่มีธุรกิจเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (ดูตารางที่ 4 และตารางที่ 5 ประกอบ)

ตารางที่ 8 สูตรน้ำทะเลเทียม NH (NH Artificial Seawater Medium)

(ที่มา : Gates and Wilson, 1960 อ้างโดย Fox, 1983)

ส่วนประกอบ	ปริมาณ/ลิตร
NaCl	24.0 กรัม
KCl	0.6 กรัม
MgCl ₂ ·6H ₂ O	4.5 กรัม
MgSO ₄ ·7H ₂ O	6.0 กรัม
CaCl ₂	0.7 กรัม
K ₂ HPO ₄	10.0 มิลลิกรัม
KNO ₃	10.0 มิลลิกรัม
Vitamin B ₁₂	1.0 ไมโครกรัม
Thiamine HCl	10.0 มิลลิกรัม
Biotin	0.5 ไมโครกรัม
^a Sulfides	1.0 มิลลิลิตร
^b Vitamin mix 8	0.1 มิลลิลิตร
^c Metals T	5.0 มิลลิลิตร
Adenin sulfate	1.0 มิลลิลิตร
Tris	1.0 กรัม
NaEDTA	10.0 มิลลิกรัม

a Sulfides : ประกอบด้วย

NH₄Cl - 2 กรัม, KH₂PO₄ - 0.1 กรัม, NaHCO₃ - 0.2 กรัม, Na₂SiO₃·9H₂O - 0.15 กรัม, เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

a Vitamin mix 8 : ประกอบด้วย

Thiamine HCl - 20 มิลลิกรัม, biotin - 50 ไมโครกรัม, Vitamin B₁₂ - 5 ไมโครกรัม, folic acid - 0.15 กรัม, PABA - 1.0 มิลลิกรัม, nicotin acid - 10 มิลลิกรัม, thymine - 80 มิลลิกรัม, choline - 50 มิลลิกรัม, inositol - 100 มิลลิกรัม, patrescine - 0.8 มิลลิกรัม, riboflavin - 0.5 มิลลิกรัม, pyridoxine - 4.0 มิลลิกรัม, pyridoxamine - 2.0 มิลลิกรัม, orotic acid - 26 มิลลิกรัม, เติมน้ำกลั่นจนครบ 100 ลิตร (Provasoli et al, 1956)

c Metals T : ประกอบด้วย

1 % สารละลายของ 2.5 มิลลิลิตร Fe Tartrate (5 มิลลิกรัม Fe), 3 มิลลิลิตร H₃BO₃ (5.1 มิลลิกรัม B), 0.1 มิลลิลิตร H₂SeO₃ (1 มิลลิกรัม Se), 0.12 มิลลิลิตร NH₄VO₃ (0.5 มิลลิกรัม V), 0.11 มิลลิลิตร K₂CrO₄

(0.2 มิลลิกรัม Cr), 0.37 มิลลิกรัม $MnCl_2$ (1.0 มิลลิกรัม Mn), 0.83 มิลลิกรัม TiO_2 (5.0 มิลลิกรัม Ti), 5.0 มิลลิกรัม Na_2SiO_3 (5.0 mg Si), 0.4 มิลลิกรัม $ZrOCl_2$ (2.0 มิลลิกรัม Zr), 0.15 มิลลิกรัม $BaCl_2$ (1.0 มิลลิกรัม Ba) เติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิกรัม

ตารางที่ 9 สูตรน้ำทะเลเทียม Instant Ocean™ (ที่มา : Fox, 1983)

ส่วนประกอบ		ความเข้มข้น (ไมโครโมลล์/ลิตร)
Cl	(คลอไรด์)	5.19 x 10 ⁵
Na	(โซเดียม)	4.44 x 10 ⁵
SO ₄	(ซัลเฟต)	2.60 x 10 ⁴
Mg	(แมกนีเซียม)	4.94 x 10 ⁴
K	(โปแตสเซียม)	9.50 x 10 ³
Ca	(แคลเซียม)	9.20 x 10 ³
HCO ₃	(ไบคาร์บอเนต)	2.30 x 10 ³
H ₃ BO ₃	(กรดบอริก)	4.04 x 10 ²
Br	(โบรมีน)	2.50 x 10 ²
Sr	(สตรอนเตียม)	91.30
PO ₄	(ฟอสเฟต)	10.50
Mn	(แมงกานีส)	18.00
MoO ₄	(โมลิบดีนัมออกไซด์)	4.40
S ₂ O ₃	(ซัลไฟต์)	3.60
Li	(ลิเทียม)	28.80
Rb	(รูบิเดียม)	1.20
I	(ไอโอดีน)	0.55
EDTA	(อีดีทีเอ)	0.13
Al	(อะลูมิเนียม)	1.50
Zn	(สังกะสี)	0.31
V	(วานาเดียม)	0.39
Co	(โคบอลต์)	0.17
Fe	(เหล็ก)	0.18
Cu	(ทองแดง)	0.05

หมายเหตุ : Instant Ocean™ เป็นสูตรน้ำทะเลเทียมของบริษัท Aquarium Systems Incorporated, U.S.A.

6.3. ข้อสังเกตในการเตรียมอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย

ระหว่างขั้นตอนการเตรียมอาหาร (enrichment media) หรือการเตรียมสต็อกสารอาหาร (nutrient stock solutions) มีเทคนิคที่ควรกล่าวถึงหลายประการดังนี้ ในการเตรียมสารเคมีจำนวนน้อย ๆ เช่น ต้องการซิงค์วิตามินบี 12 จำนวน 0.5 ไมโครกรัม เพื่อละลายในน้ำทะเล 1 ลิตร ควรเตรียมสารละลายที่เข้มข้นทีเดียวแล้วจึงทำให้เจือจางก่อนนำไปใช้ ซึ่งจะยังคงความเข้มข้นเหมือนสูตรที่กำหนด ทั้งนี้เพื่อหลีกเลี่ยงการนำสารเคมีมาชั่งซ้ำ ๆ กันหลายครั้ง อันจะเป็นสาเหตุให้มีการปนเปื้อน (contamination) ในอาหารที่เตรียมขึ้น และเป็นการประหยัดเวลาในการทำงานอีกด้วย วิธีนี้แนะนำให้ใช้ไม่ว่าจะเป็นการเตรียมสต็อกสารละลายในห้องปฏิบัติการ (primary stock solution) และสต็อกสำหรับการขยายพันธุ์ในบ่อเลี้ยงซึ่งเตรียมจาก primary stock solution

วิธีการเตรียมอาหารที่ดีอีกวิธีหนึ่งก็คือ ถ้าต้องการละลายสารเคมีซึ่งเป็นผง (powder) หลายชนิด เพื่อทำเป็นสารละลายสต็อก ควรชั่งสารเคมีตามน้ำหนักที่กำหนดในสูตรแล้วจึงใส่สารเคมีแต่ละชนิดในปิកเกอร์ขนาดเล็ก เติมน้ำกลั่นเล็กน้อย ใช้แท่งแก้วคนจนละลาย เมื่อทำเช่นนี้จนครบ ให้เทสารละลายทั้งหมดลงในปิកเกอร์ขนาด 1 ลิตร หรือตามปริมาณที่ต้องการ เสร็จ แล้วจึงเติมน้ำกลั่นอีกจนครบปริมาตรที่ต้องการ

สารอาหารที่จัดอยู่ในประเภท reagent form จะมีคุณสมบัติในการละลายน้ำไม่เหมือนกัน ฉะนั้นในการเตรียมสารละลายสต็อกจึงต้องคำนึงถึงคุณสมบัติข้อนี้ด้วย โดยมีหลักว่า เมื่อละลายสารเคมีทุกชนิดในน้ำแล้ว สารเคมีทุกชนิดต้องมีความเข้มข้นถูกต้องตามที่กำหนดไว้ และคงความเข้มข้นอยู่ตลอดไม่ว่าจะเก็บสต็อกไว้นานเท่าใดก็ตาม ไนเตรตและฟอสเฟตเป็นสารประกอบที่ละลายในน้ำค่อนข้างดี ดังนั้นจึงสามารถละลายไปพร้อมกันได้และเก็บเป็นสต็อกไว้ใช้ได้นาน ซิลิเกตและแร่ธาตุที่จำเป็น (trace metals) มีคุณสมบัติในการละลายน้ำดีมาก เนื่องจากเมื่อมีการนำเหล็กคลอไรด์ และอีดีทีเอ ในรูปสารเคมีที่เป็นผงและใช้เติมลงในสารละลายของแร่ธาตุที่จำเป็นได้เลย อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติในการละลายน้ำของเหล็กคลอไรด์และอีดีทีเอแล้ว จะพบว่าเหล็กคลอไรด์สามารถละลายน้ำได้ดีกว่าอีดีทีเอ ดังนั้นเราอาจเลือกอีดีทีเอในรูปสารเคมีที่มีน้ำ (hydrated form) คือ $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เพื่อช่วยให้อีดีทีเอสามารถละลายน้ำได้ดีเช่นเดียวกับเหล็กคลอไรด์ ส่วนวิตามินที่อยู่ในสารละลายและแร่ธาตุที่จำเป็นในรูปของสารละลายต้องเก็บไว้ในที่มืดถ้าเป็นไปได้ควรเก็บไว้ในที่มืดและเก็บในตู้เย็นจึงจะรักษาคุณภาพของสารเคมีทั้ง 2 ประเภทไว้ได้ วิธีการจดบันทึกก็มีส่วนช่วยให้การเก็บรักษาสต็อกอาหารได้ผลดี โดยการจดบันทึกวิธีการเตรียมอาหาร วันเวลาในการเตรียมอาหาร นอกจากจะได้ประโยชน์ในการเก็บรักษาสต็อกอาหารแล้ว ยังใช้เป็นข้อมูลในการแก้ปัญหาล้างที่อาจเกิดขึ้นอันเนื่องมาจากวิธีเตรียมอาหารซึ่งไม่ถูกต้อง ข้อควรระวังสุดท้ายที่เกี่ยวกับสต็อกอาหาร ก็คือความสะอาด ดังนั้นการเตรียมอาหารเพื่อการเลี้ยงแบคทีเรียทุกขั้นตอนต้องทำการฆ่าเชื้อ ไม่ว่าจะเป็นสารอาหาร (media) หรือภาชนะที่ใช้ทั้งในห้องปฏิบัติการหรือบ่อและถังที่ใช้ขยายพันธุ์ เพื่อให้การเลี้ยงมีประสิทธิภาพคุ้มทุนที่ผู้เลี้ยงได้จ่ายไป

6.4. เรื่องน่ารู้เกี่ยวกับแพลงก์ตอนพืชที่ใช้นุบาลลูกกุ้ง

1. สเกลีโตนีมา คอสตาตัม (*Skeletonema costatum*)

เป็นไดอะตอมที่มีผู้นิยมเลี้ยงกันมากชนิดหนึ่ง เนื่องจากเลี้ยงง่ายและลูกกุ้งกินได้ง่าย เพราะเป็น ไดอะตอมที่มีเซลล์เรียงต่อกันเป็นลูกโซ่ ขนาดของเซลล์ตั้งแต่ 4 ไมครอน (1 ไมครอน = 1/1,000 มิลลิเมตร) ถึง 15 ไมครอน ขนาดของเซลล์จะลดลงเรื่อย ๆ เมื่อเซลล์แบ่งตัว เพราะเป็นวิธีการสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ เมื่อใดก็ตามที่เซลล์ของสเกลีโตนีมามีขนาดเล็กกว่า 7 ไมครอน จะมีการสืบพันธุ์แบบมีเพศโดยการสร้างสปอร์เรียกว่าออกโซสปอร์ (auxospore) ซึ่งเมื่อก่อเป็นเซลล์ใหม่จะได้เซลล์ที่มีขนาดใหญ่กว่าเดิมหรือเป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ดังนั้น สายโซ่ของเซลล์จะดูหยาบเนื่องจากมีขนาดใหญ่ขึ้น รวมทั้งสีของเซลล์จะมีสีเข้มขึ้นซึ่งถือว่าเป็นระยะที่เหมาะสมในการเป็นอาหารที่ดีของลูกกุ้ง แต่ควรตรวจสอบเซลล์สเกลีโตนีมาอยู่เสมอ เนื่องจากเมื่อเกิดสายโซ่ขนาดใหญ่แล้ว ผลผลิตจะลดลงในไม่ช้า และเซลล์จะตายหมดอย่างรวดเร็ว ฉะนั้นในการเริ่มต้นเพาะเชื้อ (inoculate) จึงนิยมใช้สเกลีโตนีมาในระยะที่เกิดจากออกโซสปอร์เป็นหัวเชื้อ (stock) เพราะเซลล์มีคุณภาพแข็งแรงเมื่อนำไปขยายพันธุ์จะเติบโตดี

หลักในการสังเกตว่าเซลล์ของสเกลีโตนีมาจะเน่าเสียหรือไม่ มีดังต่อไปนี้

- ก. เซลล์เริ่มจมลงสู่พื้นหรือเกาะอยู่ข้างภาชนะ
- ข. มีเซลล์ว่าง (หรือเซลล์ที่ไม่มีโปรโตพลาสซึมในเซลล์) เกิดขึ้น
- ค. เซลล์มีสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ
- ง. ก้าน (process) ที่เชื่อมระหว่างเซลล์เริ่มสั้นลง
- จ. เซลล์มีรูปร่างกลมแทนที่จะเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า
- ฉ. สายโซ่เซลล์สั้นกว่าเดิม

การเลี้ยงสเกลีโตนีมากับการเลี้ยงคีโอเทรอสใช้วิธีเดียวกัน แต่สเกลีโตนีมาไม่ชอบแสงแดดจัดนัก ดังนั้นหากว่าขยายพันธุ์สเกลีโตนีมาโดยใช้หัวเชื้อ 1 ส่วนต่อน้ำทะเล 5 ส่วน ต้องเลี้ยงไว้กลางแจ้งขณะมีแสงแดดสเกลีโตนีมาจึงจะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว คือถ้าเริ่มขยายในตอนเช้าตอนบ่ายก็สามารถจะกรองสเกลีโตนีมามาใช้ได้ หากจะดูจากสีน้ำในถังน้ำจะมีสีน้ำตาลคล้ายสีชาจาง ๆ แต่ถ้าขยายโดยใช้หัวเชื้อ 1 ส่วนต่อน้ำทะเล 10 ส่วน จะใช้เวลาขยายนานขึ้นคือจะใช้เวลาประมาณ 1-2 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแสงแดด

การเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเครื่องมือที่จำเป็นที่สุดคือกล้องจุลทรรศน์ ผู้เลี้ยงจะต้องมีไว้เพื่อตรวจชนิดของแพลงก์ตอนที่เลี้ยงอยู่เสมอ หากมีปัญหาเกิดขึ้นผู้เลี้ยงจะได้แก้ปัญหาได้ทันที ถ้ามีแพลงก์ตอนชนิดที่ไม่ต้องการ ลูกกุ้งกินไม่ได้ เกิดในบ่อขยายพันธุ์เช่น นิทซเซีย (*Nitzschia*) ซึ่งมักจะเกิดปนมากับสเกลีโตนีมา หรือคีโอเทรอส ช่วงที่เกิดจะเป็นช่วงที่น้ำในถังมีสีน้ำตาลเข้ม ถ้าดูด้วยตาเปล่าอาจจะสังเกตเห็นว่าเป็นละอองเล็ก ๆ เกาะกันเป็นกลุ่ม ๆ ลอยอยู่ในน้ำ ถ้าตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นนิทซเซียเกาะกันโดยมีเมือก (mucous) เชื่อมทำให้สเกลีโตนีมาเข้าไปเกาะติดอยู่ด้วย หากทิ้งไว้ไม่กำจัดออก ต่อไปจะพบแต่นิทซเซียเท่านั้น ส่วนสเกลีโตนีมาจะตายหมด

สเกลีโตนีมาเป็นไดอะตอมทะเลที่อยู่ในช่วงอุณหภูมิกว้าง (eurythermal) คือเติบโตได้ในอุณหภูมิน้ำ 3-34 °C ช่วงความเค็ม 15-34 ส่วนในพัน แต่ความเค็มที่เหมาะสมคือ 25-29 ส่วนในพัน ความเข้มข้นของแสงเป็น

ปัจจัยที่สำคัญมากกว่าอุณหภูมิ หากว่าเลี้ยงสเกลีโตนีมาในห้องปฏิบัติการ สเกลีโตนีมาจะมีอัตราการเติบโตเพิ่มขึ้นถ้าความเข้มของแสงเพิ่มขึ้น กล่าวคืออัตราการเติบโตจะเพิ่มขึ้นเป็นลำดับหากเพิ่มความเข้มแสงจาก 500 ลักซ์ จนถึง 10,000 ลักซ์ แต่เมื่อความเข้มสูงกว่า 10,000 ลักซ์ อัตราการเติบโตจะลดลง นอกจากนี้สเกลีโตนีมาจะเจริญเติบโตดีถ้าจัดให้ช่วงไม่ได้รับแสงสว่าง : ช่วงได้รับแสงสว่าง เท่ากับ 10:14 ชั่วโมง หรือ 12:12 ชั่วโมง

สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสเกลีโตนีมาได้แสดงไว้แล้วในภาคผนวกซึ่งมีสูตรที่ใช้เลี้ยงในห้องปฏิบัติการและสำหรับการขยายพันธุ์ ได้แก่ สูตรของคอนเวย์ ไบรวาซาลี ซาโตะและเชริกาวา และมีเกล เป็นต้น

การนำสเกลีโตนีมามาให้ลูกกุ้งกินนั้นควรกรองเอาเศษผงหรือสิ่งสกปรกที่เจือปนออกเสียก่อน ใช้ผ้ากรองพลวงก็ตอนขนาดตา 20 ไมครอน หรือผ้าต่วน (ผ้าซับใน) มาทำเป็นถุงกรอง เมื่อปล่อยน้ำทิ้งแล้วให้นำสเกลีโตนีมาผสมกับน้ำทะเลที่สะอาด แล้วจึงตักให้ลูกกุ้งกิน สเกลีโตนีมาที่ผ่านถุงกรองนี้สามารถเก็บไว้ได้นาน 12 ชั่วโมงเท่านั้น ฉะนั้นต้องให้อาการด้วย ข้อควรระวังคือสเกลีโตนีมาที่กรองได้มีความเข้มข้นมากดังนั้นเวลาตักให้ลูกกุ้งกินควรจะให้ทีละน้อยโดยตรวจดูจากสีน้ำในถังเลี้ยงลูกกุ้งหรือส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ในช่วงหน้าฝนแสงแดดไม่ค่อยจัดนักแต่สเกลีโตนีมากลับเจริญดี จึงเป็นช่วงที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงลูกกุ้ง แต่ผู้เลี้ยงต้องหมั่นตรวจดูในถังเลี้ยงสเกลีโตนีมาบ่อย ๆ เพราะเมื่อสเกลีโตนีมาตายจะตกตะกอนอย่างรวดเร็วและไดอะตอมชนิดอื่นที่ไม่ใช่อาหารของลูกกุ้งจะเกิดขึ้นแทนที่

กรณีต้องการนำไดอะตอมมาใช้เลี้ยงลูกกุ้งระยะนอพลีซสุดท้ายที่กำลังจะเข้าระยะไซเอีย (zoea) นั้น ลูกกุ้งต้องการไดอะตอมไม่น้อยกว่า 6,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เนื่องจากลูกกุ้งต้องการอาหารจากไดอะตอมไปสร้างเปลือก ดังนั้นถ้าปริมาณไดอะตอมไม่พอ ก็จะมีลักษณะผิดปกติ เช่น กรีโค้งงอ เป็นต้น ฉะนั้นปริมาณไดอะตอมจึงควรอยู่ระหว่าง 80,000-100,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร หรือสีของน้ำจะมีสีน้ำตาลอ่อนๆ และควรรักษาระดับปริมาณไดอะตอมให้อยู่ในช่วงดังกล่าวจนกระทั่งลูกกุ้งเข้าสู่ระยะโพสท์ลาร์วา-15 หากต้องการใช้เตตราเซลมิสเลี้ยงลูกกุ้งควรรองจนกว่าลูกกุ้งโตถึงระยะไซเอีย-2 เนื่องจากเตตราเซลมิสมีขนาดใหญ่กว่าไดอะตอม ถ้าให้ลูกกุ้งระยะนอพลีซกินลูกกุ้งจะกินไม่ได้

การเลี้ยงสเกลีโตนีมาในต่างประเทศ

ใช้สูตรอาหารที่มีส่วนประกอบคล้าย ๆ กับสูตรในภาคผนวก แต่อาจมีน้ำหนักของส่วนประกอบแตกต่างกันบ้าง ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสเกลีโตนีมา *Skeletonema costatum* (ที่มา : Fox, 1983)

	I	II	III	IV	V	VI	VII
ส่วนประกอบ	สูตรของ มัดชูอะ	สูตรของ เลียว	ดัดแปลง จากII	สูตรของลี	เอฟ มีเดียม	ดัดแปลง จาก V	สูตรของ สถาบัน กาลเวสตัน
โปแตสเซียมไนเตรต (KNO ₃)	202 มก.	100 มก.	-	-	-	-	100 มก.
ยูเรีย[CO(NH ₂) ₂] ^a	-	-	60 มก.	26 มก.	-	30 มก.	-
โซเดียมไนเตรต (NaNO ₃)	-	-	-	-	150 มก.	-	-
เฟอร์ริกแอมโมเนียม- ซัลเฟต[FeNH ₄ (SO ₄) ₂]	-	-	-	-	-	-	10 มก.
โปแตสเซียมไดไฮโดร- เจนออร์โทฟอสเฟต (KH ₂ PO ₄)	7.7 มก	-	-	-	-	-	-
ไดโซเดียมไฮโดรเจน- ฟอสเฟต 12-ไฮเดรต (Na ₂ HPO ₄ ·12 H ₂ O)	-	-	10 มก	-	-	-	-
โซเดียมไดไฮโดรเจนออร์โธ ฟอสเฟต 2-ไฮเดรต (NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O)	-	-	-	-	10 มก.	-	-
แคลเซียมซูเปอร์ฟอสเฟต [Ca(H ₂ PO ₄) ₂] ^a	-	-	-	23 มก.	-	-	-
โซเดียมกลีเซอโรฟอสเฟต 5-ไฮเดรต(C ₃ H ₇ Na ₂ O ₆ P ·5H ₂ O)	-	-	-	-	-	10 มก.	-
โซเดียมเมตาซิลิเกต (Na ₂ SiO ₃)	-	10 มก.	10 มก.	-	-	10 มก.	20 มก. 11 มก.
โปแตสเซียมเมตาซิลิเกต (K ₂ SiO ₃)	13 มก.	-	-	-	-	-	-

	I	II	III	IV	V	VI	VII
ส่วนประกอบ	สูตรของ มัตซูเอะ	สูตรของ เลียว	ดัดแปลง จาก II	สูตรของลี	เอฟ มีเดียม	ดัดแปลง จาก V	สูตรของ สถาบัน กาลเวสตัน
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl) ^a	-	-	-	44 มก.	-	-	-
เฟอริคคลอไรด์ 6-ไฮเดรต (FeCl ₃ ·6H ₂ O) 5 มก.	5 มก.	-	-	-	-	-	-
ไทอามีน (Thiamine)	-	-	-	-	-	-	100 mg
ไวตามินบี 12	-	-	-	-	-	-	1 ng
ธาตุอาหารรอง (Micronutrient) ^b	-	-	-	-	1 มล.	1 มล.	-
ทริส บัฟเฟอร์ (Tris buffer) ^c	-	-	-	-	-	-	400 mg
โซเดียมอีดีทีเอ (Na ₂ EDTA)	-	-	-	-	-	-	10 มก.
น้ำทะเล	ธรรมชาติ ^d	ธรรมชาติ ^d	ธรรมชาติ ^d	ธรรมชาติ ^d	ธรรมชาติ ^d	ธรรมชาติ ^d	เทียม ^e

^a: ปู๋ใช้ในการเกษตร

^b: ธาตุอาหารรองประกอบด้วย 7.3 กรัม โซเดียมอีดีทีเอ (Na₂EDTA), 6 กรัมเฟอริคคลอไรด์ (FeCl₃·6H₂O), 12 มิลลิกรัม โซเดียมโมลิบเดต (Na₂MoO₄·2H₂O), 44 มิลลิกรัม ซิงค์ซัลเฟต (ZnSO₄·7H₂O), 360 มิลลิกรัม แมงกานีสคลอไรด์ (MnCl₂·4H₂O), 20 มิลลิกรัม โคบอลต์คลอไรด์ (CoCl₂·6H₂O), 2 มิลลิกรัม คอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO₄·5H₂O) ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร

^c: ทริส บัฟเฟอร์ มีสูตรว่า 2-amino-2 (hydroxymethyl)-1, 2-propanediol)

^d: น้ำทะเลธรรมชาติ 1,000 มิลลิลิตร

^e: น้ำทะเลเทียม เตรียมโดยผสมน้ำทะเลผง Instant Ocean™ กับน้ำประปา 28 ส่วนในพัน ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

สูตรอาหารซึ่งใช้เลี้ยงสเกลโลนีมาได้แสดงไว้ในตารางที่ 10 สูตรที่ 1 เป็นสูตรของมัตซูเอะ (Matsue) ซึ่งเป็นผู้แยกเชื้อบริสุทธิ์ของไดอะตอมชนิดนี้เป็นคนแรกและสามารถขยายพันธุ์ได้อีกด้วย อาหารสูตรที่ 2 เป็นสูตรของเลียว (Liao) ที่เลี้ยงสเกลโลนีมาจนสามารถแพร่ขยายพันธุ์กุ้งทะเล *Penaeus monodon* จนประสบความสำเร็จ สูตรที่ 3 เป็นการดัดแปลงธาตุอาหารบางตัวของสูตรที่ 2 คือ ใช้ยูเรีย [CO(NH₂)₂] แทนโปแตสเซียมไนเตรต เนื่องจาก CO(NH₂)₂ เป็นสารเคมีที่ให้ไนโตรเจนที่ดีชนิดหนึ่ง สูตรที่ 4 เป็นสูตรของนักเพาะฟักกุ้งช็อลลี (Lii) ซึ่งเป็นผู้สามารถผลิตลูกกุ้งได้ปีละ 6-7 ล้านตัว สูตรที่ 5 รู้จักกันในชื่อสารละลายเอฟ (F medium) ซึ่งใช้เลี้ยง

สเกลิตินมาในห้องปฏิบัติการเพื่อเป็นสต็อกได้ผลดีมาก สูตรที่ 6 คือ สูตรที่ 5 ซึ่งได้รับการดัดแปลง สารละลายเอฟ อันเป็นผลเนื่องมาจากการทดลองปรับเปลี่ยนสารเคมีที่ให้ธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซิลิเกต และเหล็ก ส่วนสูตรที่ 7 ซึ่งเป็นสูตรสุดท้าย เป็นสูตรที่ใช้กันในห้องปฏิบัติการของสถาบันกาลเวสต์ตัน (Galveston) สารอาหารทั้ง 6 สูตรมีความคล้ายคลึงกันมาก แต่สูตรที่ 7 แตกต่างจากสูตรอื่นเพราะใช้น้ำทะเลเทียมสำหรับการเพาะเลี้ยง

ตัวอย่างวิธีการเลี้ยงสเกลิตินมาของประเทศไต้หวัน มีวิธีการดังนี้

ก. การทำสต็อกหรือหัวเชื้อ

ทำการแยกเชื้อสเกลิตินมาและทำเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีไมโครปิเปต (micropipette method) เมื่อได้เชื้อบริสุทธิ์แล้วให้เลี้ยงไว้ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งเติมสูตรอาหารเอฟ (F medium) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (ตารางที่ 6, VI) แต่ไม่ต้องให้อากาศ การเตรียมสารอาหารเอฟทำได้โดยละลายสารเคมี 3 ชนิด ได้แก่ NaNO_3 , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ และ Na_2SiO_3 จำนวนตามที่ต้องการในน้ำกลั่น และละลายธาตุอาหารรอง (micronutrients) ด้วยน้ำกลั่น นำอาหารทั้ง 3 ขวด ไปนึ่งฆ่าเชื้อ ดูดสารละลายจากทั้ง 2 ขวด ๆ ละ 1 มิลลิลิตร เพื่อเตรียมสารอาหารปริมาตร 1 ลิตร เติมน้ำทะเลที่ฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ผสมกับ สารละลายสต็อกทั้ง 3 ชนิด ๆ ละ 0.1 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่เชื้อบริสุทธิ์ของสเกลิตินมา ตั้งระยะเวลาช่วงมืดและสว่าง (นาน 2 วัน) ดังนี้ 12 ชั่วโมงมืด/12 ชั่วโมงสว่าง เริ่มขยายพันธุ์หลังจากเริ่มเลี้ยง 20-30 วัน ใช้ความเข้มข้นที่ระดับ 1,000 ลักซ์ ขยายพันธุ์วันที่ 4-5 นับจากวันเริ่มเลี้ยงที่ความเข้มข้น 5,000 ลักซ์ หรือขยายพันธุ์วันที่ 3 นับจากวันเริ่มเลี้ยง ถ้าใช้ความเข้มข้น 10,000 ลักซ์ เป็นต้น

ข. การขยายพันธุ์ (Mass culture)

ใช้ขวดแก้วที่เรียกว่า คาร์บอย (carboy) ใส่ น้ำทะเลที่ฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 1 ลิตร ผสมกับสารละลายเอฟ ซึ่งมีหัวเชื้อสาหร่ายอยู่แล้ว 1 หลอด ๆ ละ 100 มิลลิลิตร อุณหภูมิในการเลี้ยง 25-30 °C ความเข้มข้น 5,000-9,000 ลักซ์ ซึ่งจะได้ผลผลิตสูงสุดภายในเวลา 3-4 วัน นำปิ๊งเกอร์ซึ่งใส่น้ำทะเลที่ต้มแล้ว 10 ลิตร เติมสารละลายเอฟ แล้วใส่หัวเชื้อสาหร่าย 2-3 หยด (จุลหอดละ 100 มิลลิลิตร) หรือจะใช้อัตราส่วนหัวเชื้อสาหร่าย 200-300 มิลลิลิตร ต่อน้ำทะเล 1 ลิตร ก็ได้ อุณหภูมิในการเลี้ยง 25-30 °C ความเข้มข้น 2,600-6,000 ลักซ์ จะได้ผลผลิตสูงสุดภายในเวลา 3-4 วัน ต่อจากนั้นจึงขยายพันธุ์ต่อไปได้ถึงเลี้ยงขนาดใหญ่ ซึ่งใช้ถังไฟเบอร์ทรงกลมความจุ 1 ตัน ใส่ น้ำทะเลที่สะอาดสูงถึงระดับ 800 ลิตร นำสต็อกของสเกลิตินมาปริมาตร 20 ลิตร หรือถ้าใช้แบบเข้มข้นก็ลดปริมาตรลดเหลือ 5-10 ลิตร ใส่ลงในถังไฟเบอร์

เตรียมสารอาหารสำหรับถังเลี้ยงขนาดใหญ่ดังนี้ ละลายสารเคมีทุกชนิดตามรายการในตารางที่ 6 สูตร II และ III โดยละลาย KNO_3 หรือ $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ และ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ในน้ำจืด 1 ลิตร นำขวดมาอีก 1 ใบ ละลาย Na_2SiO_3 ด้วยน้ำจืดจำนวน 1 ลิตร (เหตุที่ต้องใช้น้ำจืดเพราะถ้าใช้น้ำทะเลเมื่อละลายแล้วจะได้ตะกอนสีขาวเกิดขึ้น) สารละลายที่เตรียมได้นี้ให้เติมลงในถังเลี้ยงตอนเข้าก่อนหรือหลังการเริ่มเพาะเชื้อ (inoculate) ต่อจากนั้น 2-3 วัน (หรือก่อนที่แพลงก์ตอนพืชจะเริ่มเน่าเสีย) ตักสเกลิตินมาปริมาตร 10-20 ลิตร (หรือปริมาตร 5-10 ลิตร ในสภาพเข้มข้น) แล้วกรองด้วยผ้ากรอง ขนาดตา 150 ไมครอน ใส่ในถังเลี้ยงใบอื่น ความจุ 1 ตัน ทำ

เช่นนี้เรื่อยไปจนกว่าจะเล็กเล็กลง ฉะนั้นปริมาณของสเกลโลนีมาเพื่อขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากตั้งแต่ 10-100 ตัน ให้เทียบอัตราส่วนตั้งแต่ 0.1-0.2 ของสต็อกกับปริมาณน้ำที่ต้องการขยาย

การเตรียมน้ำทะเลเพื่อขยายพันธุ์นั้น นิยมทำน้ำให้เจือจางลงด้วยการผสมด้วยน้ำจืดเพื่อให้ได้ความเค็ม 25-30 ส่วนในพัน การให้อากาศควรใช้หัวทราย (airstone) เพื่อป้องกันสายเซลล์ของสเกลโลนีมาฉีกขาด ควรมีหลังคาพลาสติกคลุม ถังเลี้ยงขนาด 1 ตันถ้าจะให้ได้ผลดีควรทำที่กันแสงแดดจัดหรือติดหลอดไฟไม่ให้มีแสงจ้าจนเกินไป แต่ถ้าเป็นถังคอนกรีตที่มีความจุมากกว่านี้สามารถตั้งไว้กลางแจ้งได้

ค. วิธีการเก็บผลผลิต (Harvest)

ก่อนนำสเกลโลนีมาไปเลี้ยงลูกกุ้งควรทำการล้างน้ำจืดสัก 2-3 ครั้ง เพื่อขจัดน้ำมันหรือสิ่งสกปรกออกให้หมด และควรเก็บสาหร่ายก่อนที่สาหร่ายจะเน่าเสียโดยการใช้ผ้ากรองขนาดตา 150 ไมครอน หรือใช้ผ้าตาถี่ในลอน ระยะที่ควรเก็บคือเมื่อสิ้นสุดระยะที่สเกลโลนีมาเจริญเติบโตและขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว (exponential phase) สาหร่ายที่กรองได้ควรนำไปเลี้ยงลูกกุ้งทันที ถ้าเก็บไว้อาจเป็นอันตรายต่อลูกกุ้งได้

2. คีโตเซอรอส (*Chaetoceros* spp.)

เป็นไดอะตอมที่นิยมเลี้ยงกันแพร่หลายเนื่องจากหาหัวเชื้อได้สะดวกและเมื่อเจริญเต็มที่แล้วจะยังคงอยู่ได้อีกระยะหนึ่งโดยที่จะไม่ตายและตกตะกอนทันทีเหมือนกับสาหร่ายชนิดอื่น

ชนิดของคีโตเซอรอสที่นำมาเพาะเลี้ยงเพื่อเลี้ยงลูกกุ้งมีหลายชนิดด้วยกัน เช่น คีโตเซอรอส คาลซิแทรนซ์ (*Chaetoceros calcitrans*) เป็นชนิดหนึ่งที่เป็นสายเดี่ยว ๆ ซึ่งจะมีปริมาตรเซลล์ประมาณ 50 ลูกบาศก์ไมครอน แต่ปริมาตรอาจน้อยกว่านี้ เช่น 30 ลูกบาศก์ไมครอน บางครั้งคีโตเซอรอสชนิดนี้อาจมีขนาดเล็กมากคือมีเส้นผ่าศูนย์กลางเซลล์ 4-5 ไมครอนก็ได้ เพราะขนาดจะเปลี่ยนแปลงตามสภาพแวดล้อม นอกจากไดอะตอมชนิดนี้จะเป็นชนิดที่เหมาะสมกับการเป็นอาหารลูกกุ้งแล้วยังใช้เป็นอาหารที่ดีในการเลี้ยงหอยสองฝาได้อีกด้วย คีโตเซอรอสที่เป็นเซลล์เดี่ยวอีกชนิดหนึ่งคือ คีโตเซอรอส กราซิลิส (*C. gracilis*) เซลล์มีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาดของเซลล์โดยไม่นับก้าน (setae) มีดังนี้ ความยาว 8-12 ไมครอน ความกว้าง 7-10 ไมครอน คีโตเซอรอสชนิดนี้นิยมเลี้ยงกันในประเทศตาสิตี มลรัฐฮาวาย และห้องปฏิบัติการทางทะเลตุงกาน (Tungkang) ในประเทศไต้หวัน เพื่อเป็นอาหารลูกกุ้งฟิเนียส ลูกหอย 2 ฟา โรติเฟอร์ และโคพีพอด

คีโตเซอรอสทุกชนิดสามารถทนทานต่ออุณหภูมิสูง ๆ ของน้ำในบ่อเลี้ยงได้ดี เช่นเมื่อเลี้ยงคีโตเซอรอส (*C. gracilis*) ในบ่อที่น้ำอุณหภูมิ 40°C เซลล์ของไดอะตอมชนิดนี้จะไม่มีสี แต่ถ้าลดอุณหภูมิของน้ำลงที่อุณหภูมิ 20 หรือ 30°C ไดอะตอมจะเจริญเติบโตตามปกติ เช่นมีสีเข้มขึ้น อัตราการเติบโตดีขึ้น เป็นต้น อุณหภูมิสูงสุดที่เลี้ยงคีโตเซอรอสชนิดนี้ไม่ควรสูงกว่า 37°C แต่ถ้าจะให้ได้อัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด อุณหภูมิควรอยู่ในช่วง 20-30 °C ความเค็มต่ำสุดคือ 6 ส่วนในพัน ความเค็มแม้จะสูงถึง 50 ส่วนในพันก็ยังเติบโตดี แต่ช่วงความเค็มที่เหมาะสมคือ 17-25 ส่วนในพัน อัตราการเติบโตของคีโตเซอรอสจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ถ้าช่วงความเข้มข้นระหว่าง 500 ถึง 10,000 ลักซ์

โดยทั่วไปนิยมใช้น้ำทะเลธรรมชาติในการเพาะเลี้ยงคีโตเซอรอส เพื่อป้องกันการปนเปื้อน (contamination) จึงควรฆ่าเชื้อในน้ำทะเลด้วยไฮโปคลอไรต์ในอัตราส่วน 16 กรัมต่อน้ำ 1 ตัน หรือใช้สารละลายเข้มข้น 150 ส่วนในล้าน (10% คลอรีน) ของไฮโปคลอไรต์ เติมนลงในถังเพาะ หลังจากนั้น 12 ชั่วโมงจึงเติม

โซเดียมไฮโอซัลเฟตเพื่อให้ตกตะกอนคลอรีนเป็นกลางในอัตรา 40-45 กรัม/น้ำ 1 ตัน ต่อจากนี้จึงจะเริ่มทำการเพาะไดอะตอมได้

เราสามารถนำสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสเกลไดโนมามาเลี้ยงคีโตเซอรอสได้และใช้สูตรอาหารของเอิร์ชไรเบอร์ (ดูภาคผนวก) สำหรับเตรียมสารละลายเพื่อทำสต็อกเชื้อบริสุทธิ์ นอกจากนี้ยังมีสูตรอาหารอื่น ๆ ที่เหมาะแก่การเลี้ยงคีโตเซอรอสอีก ได้แก่ สูตรวัลเน หรือคอนเวย์ สูตรโปรวาซาลี ฯลฯ

การขยายพันธุ์คีโตเซอรอสนั้นต้องเตรียมล่วงหน้าประมาณ 4-5 วัน ในกรณีที่มิหวัเชื้อเพียงเล็กน้อยและหัวเชื้อที่ใช้ต้องเป็นหัวเชื้อจากห้องปฏิบัติการเพราะจะได้หัวเชื้อที่สมบูรณ์แข็งแรงปราศจากสิ่งเจือปน จึงพร้อมที่จะขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว

ก่อนการเก็บเกี่ยวคีโตเซอรอสเพื่อนำไปเลี้ยงลูกกุ้ง ควรกรองเอาเศษผงและสิ่งสกปรกออกเสียก่อนแล้วจึงนำส่วนที่กรองได้ไปให้ลูกกุ้งกิน และที่สำคัญควรจะต้องตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ว่า ไม่มีไดอะตอมชนิดอื่นที่ไม่ใช่คีโตเซอรอสปะปนอยู่ และหลังจากดักให้ลูกกุ้งกินแล้ว ควรเหลือคีโตเซอรอสไว้ขยายพันธุ์ด้วยวิธีที่อธิบายไว้แล้ว และเติมอัตราส่วนของอาหารเฉพาะส่วนน้ำทะเลที่เติมลงไปใหม่ เพราะถ้าทิ้งไว้ไม่ขยายต่อคีโตเซอรอสจะเริ่มตายและตกตะกอนจับเป็นกลุ่ม ไม่เหมาะที่จะนำมาให้ลูกกุ้งกินเนื่องจากคีโตเซอรอสที่ตายจะมีเมือกซึ่งจะไปติดตามตัวลูกกุ้งทำให้เกิดความรำคาญ และยังเบียดเบียนของแบคทีเรียอีกด้วย

ถ้าเพาะคีโตเซอรอส คาลซีแทรนซ ในภาชนะความจุ 200 ลิตร อุณหภูมิ 21 °C ความเข้มแสง 15,000 ลักซ์ โดยการให้อากาศที่ผสม CO₂ เข้มข้น 1% ในอัตรา 5 ลิตร/นาที่ และเติมอาหารด้วย ความหนาแน่นเริ่มต้นของไดอะตอม 1×10^6 เซลล์/ลิตร จะสามารถผลิตไดอะตอมที่มีความหนาแน่นถึง $28-30 \times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตรในเวลา 3-4 วัน ภาชนะที่ใช้เลี้ยงเป็นรูปกรวยทรงสูง ใช้แสงสว่างแบบฟลูออเรสเซนต์

วิธีการเก็บเกี่ยวคีโตเซอรอสที่ศูนย์การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (SEAFDEC) ใช้อยู่นั้นเป็นวิธีทำให้เซลล์ตกตะกอนโดยการเติมอะลูมิเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 150 ส่วนในล้าน นำไดอะตอมที่ตกตะกอนไปเกลี่ยให้เป็นแผ่นบาง ๆ (ประมาณ 25×10^6 เซลล์/มิลลิลิตร) ใส่ในถุงพลาสติกปิดสนิทแล้วแช่แข็งในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 0°C ไดอะตอมที่แช่แข็งนี้สามารถนำไปเลี้ยงลูกกุ้งได้ จากการศึกษเปรียบเทียบการเติบโตของลูกกุ้งที่เลี้ยงด้วยไดอะตอมที่เก็บด้วยการแช่แข็งและที่เก็บสด พบว่าลูกกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 2 ประเภทมีอัตราการเติบโตที่ไม่แตกต่างกัน ส่วนการผสมสารเคมีที่ชื่อว่า ไครโอโพรเทคแทนท์ (cryoprotectant) กับไดอะตอมนั้น สามารถเก็บคีโตเซอรอสแช่แข็งให้มีคุณภาพดีได้นานถึง 18 เดือน คีโตเซอรอสที่ทำให้แห้งโดยวิธีการตากแดดก็มีคุณภาพพอที่เป็นอาหารเลี้ยงเสริมเพื่อเลี้ยงลูกกุ้งได้เช่นกันยามที่ไดอะตอมสดขาดแคลน

3. คลอเรลลา (*Chlorella* sp.)

การทำสต็อกของคลอเรลลาทำได้ดังนี้ ใช้ฟอสเฟตแก้วความจุ 250 มล. ใส่สารละลายเอฟ (ตารางที่ 10, V) หรือสารละลายคอนเวย์ หรือวัลเน อุณหภูมิในการเลี้ยง 20°C อัตราส่วนแสงมืด/สว่างเท่ากับ 12/12 ความเข้มแสงที่ระดับ 2,000 ลักซ์ ทำการเพาะเชื้อใหม่ (subculture) ทุก 2 ชั่วโมง เพื่อเก็บรักษาสต็อกให้มีคุณภาพดี

การขยายพันธุ์คลอเรลลาเพื่อให้ได้ปริมาณมาก (mass culture) ให้ทำดังนี้ ใส่เชื้อสาหร่ายปริมาณ 100 มิลลิลิตร ลงเลี้ยงในขวดแก้วคาร์บอย (carboy) ขนาด 1 ลิตร ซึ่งได้เติมสารละลายสูตรเดียวกับที่

ใช้กับสต็อก อุณหภูมิที่เลี้ยง 25-30 °C ความเข้มแสง 6,000-9,000 ลักซ์ ช่วงแสงมืด/สว่าง เท่ากับ 12/12 ชั่วโมง โดยให้อาหารตลอดเวลา จะได้ผลผลิตสูงสุดภายใน 4-5 วัน

ต่อจากนั้นนำสาหร่ายที่มีความหนาแน่น 2×10^7 เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาตร 1 ลิตร ไปเลี้ยงในปีกเกอร์ที่มีความจุมากขึ้น เติมน้ำทะเลที่ต้มแล้ว 10 ลิตร ซึ่งผสมด้วยปุ๋ยที่ใช้ในการเกษตร เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต 150 มิลลิกรัม/ลิตร ยูเรีย 7.5 มิลลิกรัม/ลิตร และแคลเซียมซูเปอร์ฟอสเฟต 25 มิลลิกรัม/ลิตร ควรวางถังเลี้ยง ใกล้หน้าต่างหรือที่ ๆ มีแสงสว่าง ให้อากาศโดยใช้ แอร์สโตน รักษาสภาพแวดล้อมของการเลี้ยงให้เหมือนกับการเลี้ยงในภาชนะความจุ 1 ลิตร ควบคุมกำหนด 4-5 วัน นำเชื้อสาหร่ายซึ่งมีความหนาแน่น $1-1.5 \times 10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาตร 10 ลิตร ใส่ลงเลี้ยงในถังพลาสติกความจุ 500 ลิตร ซึ่งภายในถังมีน้ำทะเลซึ่งผ่านการกรองสิ่งสกปรกด้วยทรายจำนวน 250 ลิตร เติมหาอาหารที่ต้องการในถังเลี้ยง ทำการขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้จากถังเลี้ยงความจุ 450 ลิตร เรื่อยไปจนกระทั่งได้สัดส่วนของปริมาตรน้ำเริ่มต้น/ปริมาตรน้ำที่ต้องการ เท่ากับ 1/5 หรือ 1/10

4. เตตราเซลมิส ชูอิ (*Tetraselmis chuii*)

เป็นแพลงก์ตอนพืชชนิดมีหนวดอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียว เตตราเซลมิสมีผู้รู้จักในชื่อหนึ่งว่า แพลทิมแนส (*Platymnas*) อีกชนิดหนึ่งที่นิยมเลี้ยงกันของสกุลนี้คือ ชูซิกา (*T. suecica*)

ส่วนประกอบของสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเตตราเซลมิสมีหลายสูตร เช่น โปรวาโซลี คอนเวย์ หรือวอลล์ ถ้าต้องการเลี้ยงปริมาณมาก ใช้ น้ำทะเลเทียมที่เพิ่มอากาศทั้ง 2 สูตร ที่กล่าวมานี้ใช้เลี้ยงเตตราเซลมิสได้ดีเว้นแต่จะไม่เติมโซเดียมเมตาซิลิเกต (Na_2SiO_3) ลงไปด้วย

ระดับความเค็มของน้ำที่เหมาะสมในกรณีใช้น้ำทะเลธรรมชาติจะอยู่ระหว่าง 15-36 ส่วนในพัน และถ้าใช้น้ำทะเลเทียมจะอยู่ระหว่าง 22-36 ส่วนในพัน ถ้าเลี้ยงกลางแจ้งควรควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 15-33 °C ในแสงธรรมชาติ ความหนาแน่นของเตตราเซลมิสที่ผลิตได้อาจอยู่ระหว่าง $275-450 \times 10^3$ เซลล์/มิลลิลิตร ซึ่งอาจมีปริมาณสูงถึง $1,500 \times 10^3$ เซลล์/มิลลิลิตร ก็ได้

วิธีเก็บผลผลิตเตตราเซลมิสโดยวิธีการปั่นให้ตกตะกอนอาจนำไปใช้ในสภาพสดหรือแช่แข็งเพื่อเก็บไว้ใช้ก็ได้ ซึ่งเวลานำไปใช้ก็เพียงแต่ปล่อยให้ละลายแล้วนำไปเจือจางเพื่อให้เป็นอาหารลูกกุ้งได้ เตตราเซลมิสที่ผ่านการแช่แข็งแล้วมีคุณค่าอาหารด้อยกว่าเมื่ออยู่ในสภาพสด

ข้อคิดในการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

ในการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเพื่ออนุบาลลูกสัตว์น้ำมีข้อควรคำนึง 4 ประการดังต่อไปนี้

1. พันธุ์ที่เหมาะสม

โดยทั่วไปสายพันธุ์หรือชนิดที่นำมาเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายนั้นได้มาจากสายพันธุ์ในท้องถิ่น (local strains) ทั้งนี้ ตัวอย่างเช่น *Skeletonema costatum* แยกสายพันธุ์ในประเทศไต้หวัน *Chaetoceros calcitrans* แยกสายพันธุ์ในประเทศฟิลิปปินส์ หรืออาจจะนำสายพันธุ์จากแหล่งอื่นมาเลี้ยงซึ่งสายพันธุ์นั้น ๆ สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของท้องถิ่น รายละเอียดการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชหรือสาหร่ายหาอ่านได้จากหนังสือเรื่อง Handbook of Phycological Methods : Culture Methods and Growth Measurement รวบรวมโดย Stein, 1973

2. การเก็บรักษาสัตว์

การเก็บรักษาสัตว์สายพันธุ์ที่เลี้ยงให้อยู่ได้นานเป็นเรื่องที่สำคัญมาก ฉะนั้น เรื่องที่ควรคำนึงถึงมากที่สุดคือ สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับสายพันธุ์ที่ต้องการเก็บ รวมทั้งมีการเพาะเชื้อใหม่ (subculture) เป็นระยะ ๆ เพื่อให้การเติบโตของแพลงก์ตอนพืชไม่ขาดตอน และอยู่ในสภาพที่สมบูรณ์สำหรับขยายพันธุ์ต่อไป ข้อควรคำนึงในการเลี้ยงอีกข้อก็คือ การฆ่าเชื้อภาชนะทุกใบ สารอาหาร วัสดุ และเครื่องมือทุกชิ้นในการเลี้ยง

3. มีความรู้เรื่องสภาพการเลี้ยง

ผู้เลี้ยงควรมีความรู้สภาพการเลี้ยงทุกอย่าง เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม น้ำ ความเข้มแสง ระยะเวลาที่ให้แสง สารอาหาร การให้อาหาร การให้อากาศ และวิธีการขยายพันธุ์จากห้องปฏิบัติการไปสู่เลี้ยงกลางแจ้ง ซึ่งเรื่องที่กล่าวมานี้อาจค้นคว้าจากสิ่งตีพิมพ์ทั่วไปในเรื่องที่เกี่ยวข้องหรือจากการทดลองด้วยตนเอง

4. สามารถทำนายพัฒนาการของการเพาะเลี้ยงได้

ผู้เลี้ยงควรจะสามารถทำนายความหนาแน่นของเซลล์ที่จะเกิดขึ้นได้ล่วงหน้า รวมทั้งช่วงเวลา (ชั่วโมงหรือวัน) ที่จะเก็บผลผลิตได้ด้วย เพื่อว่าจะได้เตรียมปริมาณอาหารให้แก่ลูกกุ้งได้ทันเวลาที่ต้องการ

6.5. วิธีการวัดการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

มีประโยชน์ในการตรวจสอบประสิทธิภาพการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช ในการเลี้ยงผู้เลี้ยงควรเข้าใจลักษณะการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช โดยดูจากเส้นกราฟภาพที่ 5 จากรูปกราฟดังกล่าวจะเห็นว่าการเจริญเติบโตแบ่งออกได้ 5 ระยะ คือ

- (1) ระยะปรับตัว (Lag phase or inductional phase)
- (2) ระยะเอกซ์โพเนนเชียล (Exponential phase)
- (3) ระยะเฉื่อย (Retardation phase or phase of declining relative growth)
- (4) ระยะคงที่ (Stationary phase)
- (5) ระยะตาย (Death phase)

(1) **ระยะปรับตัว (Lag phase)** เป็นระยะที่เซลล์ปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ เช่น แสง อุณหภูมิ และธาตุอาหาร ฯลฯ ระยะนี้แพลงก์ตอนพืชไม่มีการแบ่งเซลล์ ฉะนั้น ถ้าเซลล์ที่ไม่สามารถปรับตัวได้จะตายลง การที่แพลงก์ตอนพืชจะผ่านระยะปรับตัวนี้เร็วมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของเซลล์และความอุดมสมบูรณ์ของอาหารที่เลี้ยง ถ้าสภาพทั้งสองอย่างเหมาะสมจะเข้าสู่ระยะที่ 2 เร็วขึ้น

(2) **ระยะเอกซ์โพเนนเชียล (Exponential phase)** เป็นระยะที่แพลงก์ตอนพืชเจริญเติบโตและแพร่ขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว ระยะนี้จะนานเท่าใดขึ้นอยู่กับปริมาณสารอาหารและคุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีของสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความเข้มแสง ช่วงแสงสว่าง รวมทั้งผลผลิตของเซลล์ของแพลงก์ตอนพืช สภาพแวดล้อม ลักษณะการเจริญเติบโตของระยะนี้เป็นแบบที่รวดเร็วในระยะแรกและจะค่อย ๆ ช้าลงตามลำดับ

(3) **ระยะเฉื่อย (Retardation phase of phase declining relative growth)** เป็นช่วงที่เซลล์มีการเจริญเติบโตช้าลงเพราะขาดแคลนอาหาร เช่น ไนโตรเจน เหล็ก คาร์บอน หรือออกซิเจน เนื่องจากปริมาณเซลล์เกิดหนาแน่นเกินไป การเสียสมดุลของ pH เพราะเกิดแอมโมเนียขึ้นมาก หรือแสงสว่างลดลงเนื่องจากเกิดการบังกันเอง (auto-shading) วิธีแก้ไขให้การเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเป็นปกติทำได้โดยเติมธาตุอาหารที่ขาดแคลน ถ้ามีการตกตะกอนของเฟอริคฟอสเฟตอาจแก้ไขโดยการเติมสารคีเลเตอร์ เช่น โซเดียมอีดีทีเอ ลงไปละลายตะกอน เหล็ก ส่วนการป้องกันการขาดแคลนคาร์บอนและออกซิเจนนั้นอาจทำได้โดยการเขย่าภาชนะตลอดเวลาหรือใช้การพ่นอากาศ ซึ่งนอกจากจะเพิ่มคาร์บอนและออกซิเจนแล้วยังช่วยให้เกิดการผสมผสานของมวลน้ำในภาชนะเลี้ยง ทำให้เซลล์แพลงก์ตอนพืชได้รับแสงสว่างโดยทั่วถึงกันอีกด้วย

(4) **ระยะคงที่ (Stationary phase)** เป็นระยะที่การเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชหยุดนิ่งเนื่องจากธาตุอาหารลดน้อยลงและเกิดสารพิษจากขบวนการเมตาบอลิซึมหรือการสลายตัวของเซลล์เพิ่มมากขึ้น

(5) **ระยะตาย (Death phase)** เป็นระยะที่เซลล์หยุดการเติบโตโดยสิ้นเชิงเนื่องจากธาตุอาหารหมดลง เซลล์จะเริ่มตายและการตายจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และรวดเร็วขึ้น ฉะนั้นความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเพื่ออนุบาลลูกสัตว์น้ำจึงขึ้นอยู่กับความสามารถของผู้เลี้ยงที่จะควบคุมการเลี้ยงให้มีกราฟการเจริญเติบโตอยู่ในระยะเอ็กซ์โพเนนเชียลนานที่สุดเท่าที่จะทำได้ วิธีการรักษาสภาพการเพาะเลี้ยงให้เหมาะสมเพื่อให้การเจริญเติบโตระยะดังกล่าวมี 3 วิธี ดังนี้

ก. โดยการย้ายเชื้อ (Transfer) สาหร่ายไปใส่ภาชนะที่ใหญ่ขึ้น ควรทำการย้ายเชื้อก่อนเข้าสู่ระยะคงที่ (stationary phase) ต่อจากนั้นให้พยายามเลี้ยงจนสาหร่ายมีปริมาณสูงสุดแล้วจึงนำไปเลี้ยงลูกสัตว์น้ำต่อไป

วิธีแรกที่เป็นเลี้ยงแบบใช้หัวเชื้อสาหร่าย (Stock culture) สำหรับการย้ายเชื้อเป็นระยะ ๆ เพื่อขยายพันธุ์ โดยทั่วไปนิยมใช้พันธุ์สาหร่ายที่ได้จากการย้ายเชื้อครั้งที่ 1-2 สำหรับการเพาะเชื้อ (inoculum) ส่วนหัวเชื้อสาหร่ายนั้นจะเก็บรักษาไว้เพื่อเป็นตัวเริ่มต้น (starter culture)

ข. โดยการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง (Continuous culture) วิธีนี้เป็นการเลี้ยงแบบรักษาปริมาณการเลี้ยงให้เท่ากับปริมาณที่ต้องการเลี้ยงลูกสัตว์น้ำ เรียกว่าเป็นวิธีการจัดการเลี้ยงแบบ chemostatic อย่างง่าย คือมีการเติมอาหารและน้ำทะเล โดยท่อน้ำเข้า ลงไปในบ่อเลี้ยงตลอดเวลาในอัตราการไหลเข้าเท่ากับอัตราการไหลของน้ำในบ่อที่นำไปใช้พอดีทุกครั้ง ดังนั้น ถ้าการคำนวณถูกต้องทั้งปริมาณแสงสว่างและปริมาณอาหารผู้เลี้ยงจะได้ผลผลิตตามต้องการติดต่อกันเป็นเวลานาน

ค. โดยการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semicontinuous culture) เป็นวิธียืดอายุการเลี้ยงในปริมาณมาก ๆ คือเลี้ยงจนสาหร่ายมีความหนาแน่นสูงแล้วตักสาหร่ายบางส่วนไปเลี้ยงลูกสัตว์น้ำ ต่อจากนั้นจะเติมน้ำทะเลและสารอาหารลงในบ่อเลี้ยงโดยให้มีอัตราส่วนของอาหารเท่าเดิม เมื่อสาหร่ายมีความหนาแน่นก็ตักออกไปได้อีก ทำเช่นนี้จนกว่าบ่อเลี้ยงจะมีสภาวะไม่เหมาะสมซึ่งต้องเริ่มทำการเพาะสาหร่ายใหม่

6.6. หลักการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเพื่อขยายพันธุ์

มีหลักควรปฏิบัติตามตัวอย่างที่จะกล่าวดังต่อไปนี้

1. หัวเชื้อสาหร่าย (Stock culture)

ใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น (starter culture) เพื่อขยายพันธุ์ หัวเชื้อสาหร่ายนี้ควรเก็บในหลอดแก้วที่มีฝาแบบฝาเกลียวและควรเป็นแก้วคุณภาพดีเช่น Pyrex™ ซึ่งสามารถทนความร้อนสูง ๆ ได้ขณะที่ต้องฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (autoclave) ฝาปิดแบบเกลียวนอกจากจะง่ายต่อการใช้แล้วยังช่วยลดการปนเปื้อนระหว่างขั้นตอนการถ่ายเชื้อ (transfer) ได้อีกด้วย อาหารที่นิยมใช้เพื่อเตรียมหัวเชื้อคือสารละลายเอฟของกิลลาร์ด (Guillard F medium) ระดับความเข้มข้น F/8 (ตารางที่ 11)

แสงสว่างเป็นปัจจัยที่สำคัญหนึ่งในการเก็บหัวเชื้อสาหร่าย ถ้าเลี้ยงสาหร่ายชนิดมีขนาดต้องให้แสงสว่างตลอดเวลา แต่ถ้าเลี้ยงไดอะตอมการให้แสงสว่างนานเพียง 12 ชั่วโมงก็เพียงพอแล้ว เพราะหากไดอะตอมได้รับแสงสว่างติดต่อกันจะมีการแบ่งตัวตลอดเวลาจนทำให้ขนาดเซลล์ลดลงเรื่อย ๆ และอาจตายหมดในเวลารวดเร็ว โดยทั่วไปความเข้มแสงสว่างตั้งแต่ 750 ถึง 1,000 ลักซ์ นับว่าเพียงพอต่อการเลี้ยงสาหร่ายแล้ว ชนิดหลอดควรใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์กำลัง 30-40 วัตต์ ห้องเลี้ยงสาหร่ายควรมีเครื่องปรับอากาศในห้องโดยตั้งอุณหภูมิที่ 24 °C และควรติดหลอดไฟบริเวณหน้าภาชนะเลี้ยงสาหร่าย

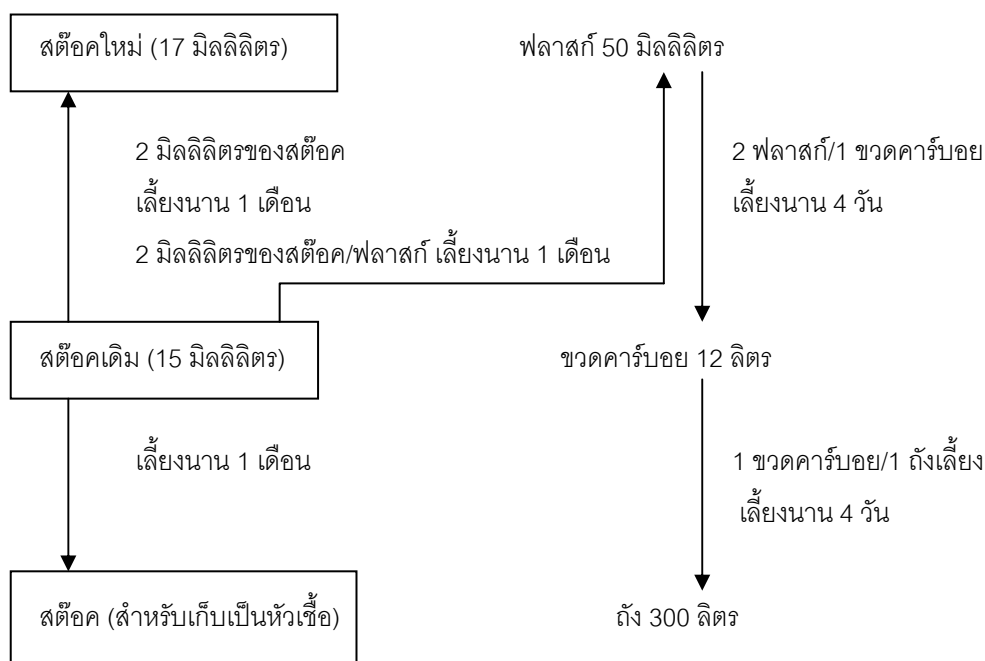
ผู้เลี้ยงสาหร่ายหรือผู้ที่เกี่ยวข้องควรหลีกเลี่ยงการเข้าห้องเก็บหัวเชื้อสาหร่ายบ่อย ๆ หากจำเป็นต้องทำงานในห้องนี้ควรรีบทำงานให้เสร็จโดยเร็วที่สุดเท่าที่จะทำได้เพื่อป้องกันการปนเปื้อนอันจะเป็นอันตรายต่อหัวเชื้อสาหร่ายที่เก็บไว้ในห้องดังกล่าว

หัวเชื้อสาหร่ายที่ไม่จำเป็นต้องให้อากาศเพื่อป้องกันการปนเปื้อนควรวางหลอดแก้วที่เลี้ยงในตะแกรงเพื่อป้องกันไม่ให้หลอดล้มและวางตะแกรงบนชั้นที่มีหลอดไฟส่องอยู่ ทั้งหลอดแก้วและอาหารในหลอดต้องผ่านการฆ่าเชื้อเสียก่อนทุกครั้งก่อนที่จะทำการเพาะเชื้อสาหร่ายเพื่อป้องกันการปนเปื้อน

ควรเลี้ยงเชื้อสาหร่ายในห้องปลอดเชื้อนานประมาณ 1 เดือน แล้วจึงเริ่มการย้ายเชื้อเพื่อเริ่มการขยายพันธุ์เทคนิคการปฏิบัติงานทุกขั้นตอนควรเป็นเทคนิคแบบปลอดเชื้อ (aseptic technique) โดยใช้ตู้ย้ายเชื้อที่สะอาด (sterile transfer hood)

ตารางที่ 11 ระดับความเข้มข้นของอาหาร (ที่มา : Fox, 1983)

หัวเชื้อสำหรับ แยกเชื้อ / เพาะเชื้อ / เลี้ยง	ปริมาตรอาหาร	ระดับความเข้มข้น ของอาหาร	เวลาในการเลี้ยง (วัน)
- สต็อกเดิม (starter culture) 2 มิลลิลิตร / หลอดแก้วฝาแบบเกลียว (ในหลอดแก้วฝาแบบเกลียว)	15 มิลลิลิตร	F/8	30
- สต็อกเดิม (starter culture) ย้ายเชื้อ 2.0 มิลลิลิตร / ฟลาสก์ขนาดเล็ก (ในฟลาสก์)	50 มิลลิลิตร	F/2	30
- เพาะเชื้อ 50 มิลลิลิตร 2 ฟลาสก์ / 1 ขวดคาร์บอย (ในขวดคาร์บอย)	12 ลิตร	F/2	4
- เลี้ยง 1 ขวดคาร์บอย / 1 ถัง	300 ลิตร (1 ถังเลี้ยง)	F/2	4



ภาพที่ 1 ไดอะแกรมการขยายพันธุ์สำหรับ
(ที่มา : Fox, 1983)

เริ่มแรกควรใช้หัวเชื้อปริมาตร 2 มิลลิลิตร เพื่อเพาะเชื้อในฟลาสก์ (Erlenmeyer flask) ขนาดเล็ก ปริมาตร 125 มิลลิลิตร ซึ่งมีฝาปิดแบบเกลียว ขณะทำงานควรวางฟลาสก์บนแผ่นที่หมุนได้เพื่อหลีกเลี่ยงการจับต้องภาชนะบ่อย ๆ ซึ่งขั้นตอนหรือระบบการขยายพันธุ์ได้แสดงไว้ในภาพที่ 1

ภาพที่ 1 แสดงให้เห็นว่าจากหลอดแก้วที่เก็บหัวเชื้อจะขยายพันธุ์ต่อไปโดยใช้ฟลาสก์ ช่วงนี้ให้ความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ ฟลาสก์ควรอยู่บนชั้นที่มีหลอดไฟสำหรับให้แสงสว่างและต้องเขย่าฟลาสก์เป็นระยะ ๆ เพื่อให้สาหร่ายได้รับแสงสว่างทั่วถึงกันจะได้เติบโตดีและป้องกันไม่ให้อาหารตกตะกอน ถ้าเป็นสาหร่ายชนิดที่ตกตะกอนง่าย เช่น คลอเรลลา ควรเขย่าฟลาสก์ให้บ่อยขึ้นอีก ภาชนะเลี้ยงไดอะตอมถ้าเป็นชนิดที่มีส่วนผสมของโบรอนและซิลิเกต (boro-silicate culture tube) แล้ว ไม่ต้องเติมสารประกอบซิลิกาในอาหารอีก เพราะไดอะตอมได้รับสารประกอบซิลิกาจากภาชนะเพียงพอระหว่างการนั่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน

เมื่อเลี้ยงสาหร่ายในฟลาสก์นาน 4 วัน ให้ทำการเพาะเชื้อต่อไปอีกโดยใช้ขวดแก้วคาร์บอย (carboy) ซึ่งเป็นขวดแก้วทนความร้อนความจุตั้งแต่ 12 ลิตร และ 20 ลิตร (ภาพที่ 7) ปากขวดยังได้ออกแบบให้มีที่สำหรับเพาะเชื้อ (inoculation port) โดยใช้หลักความดัน และสามารถปรับความดันระดับต่าง ๆ ได้ตามต้องการ นอกจากนี้ยังมีท่อให้อากาศแบบพิเศษเพื่อช่วยให้น้ำหมุนเวียนในภาชนะได้อย่างทั่วถึง สำหรับลดการตกตะกอนของสาหร่ายที่เลี้ยงอีกด้วย ทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตดีเพราะเซลล์ได้รับแสงสว่างและคาร์บอนจากแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และเนื่องจากการเลี้ยงช่วงนี้ต้องมีการให้อากาศช่วยด้วย จึงจำเป็นต้องกรองอากาศก่อนที่จะให้ผ่านเข้าระบบการเลี้ยง เครื่องกรองอากาศควรมีส่วนประกอบตามภาพที่ 8 คือนอกจากจะมีอุปกรณ์กำจัดเชื้อโรคที่ติดมากับอากาศแล้วยังมีอุปกรณ์ดูดน้ำหรือความชื้นที่ติดมากับอากาศอีกด้วย เป็นการป้องกันไม่ให้น้ำซึ่งอาจเล็ดลอดไปทำให้อาหารเจือจางลง

ที่ตั้งของขวดคาร์บอยควรเป็นชั้นขนาดพอเหมาะ สามารถวางขวดความจุ 12 ลิตร จำนวน 10 ขวดขึ้นไปได้ และมีที่ว่างพอสำหรับติดตั้งหลอดไฟลูออเรสเซนต์กำลัง 40 วัตต์ จำนวน 4 หลอด ที่ตั้งหลอดไฟควรอยู่ด้านหลังของคาร์บอยดังภาพที่ 9 ชั้นวางขวดควรทาสีขาวเพื่อช่วยการสะท้อนแสงให้ดีขึ้น

ความเข้มข้นของอาหารที่เลี้ยงในขวดคาร์บอยควรอยู่ในระดับ F/2 (ตารางที่ 11) หรืออาหารสูตรกิลลาร์ดที่ลดความเข้มข้นลงครึ่งหนึ่งของปกติ ความเข้มข้นระดับนี้เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมแก่การขยายพันธุ์ในช่วงนี้ อุปกรณ์ที่ใช้เลี้ยงทุกชิ้น (ขวดคาร์บอย อาหาร อุปกรณ์ให้อากาศ) ต้องผ่านการฆ่าเชื้อเสียก่อน และถ้าเลี้ยงไดอะตอมก็ต้องเติมสารประกอบซิลิกาในอาหารด้วย

เมื่อเลี้ยงสาหร่ายในขวดคาร์บอยจนครบ 4 วันแล้ว ควรเริ่มทำการขยายพันธุ์ขั้นตอนสุดท้าย ภาชนะที่ใช้คือถัง (polytank) หรือบ่อ ถังเลี้ยงอาจเป็นรูปกรวย ทรงสี่เหลี่ยม หรือทรงกระบอกก็ได้ ถังรูปกรวยเป็นภาชนะที่เหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชชนิดที่ไม่มีหนวด ถังรูปทรงกระบอกนิยมใช้กันในสถานปฏิบัติการบางแห่ง แต่อาจมีปัญหาเรื่องการให้แสงสว่างต่อแพลงก์ตอนพืชที่เลี้ยง ถังรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าเป็นถังที่มีประสิทธิภาพที่สุด แต่ต้องระวังเรื่องการจัดให้อากาศคือต้องให้พอเพียงไม่ว่าถังเลี้ยงจะเป็นรูปใดก็ตาม เรื่องที่ผู้เลี้ยงต้องคำนึงถึงมากที่สุดคือเรื่องอาหาร สีของถังเลี้ยงควรมีสีขาว อาจใช้ถุงพลาสติกสำหรับเลี้ยงแทนถังก็ได้ แต่ต้องระวังขนาดเนื่องจากน้ำหนักน้ำในถังจะดึงให้ถังขาด ฉะนั้นควรแขวนถังไว้บนราว ข้อเสียอีกประการหนึ่งของถุงพลาสติกก็คือการให้แสงสว่างเพราะทำได้ยาก อาจแก้ไขโดยการเพิ่มหลอดไฟให้มากขึ้นเพื่อให้แสงส่องลงบนถุงพลาสติกพอได้

อุปกรณ์ที่ช่วยการหมุนเวียนของน้ำควรต้องมีเพื่อให้เซลล์ของแพลงก์ตอนพืชได้รับอาหารได้อย่างทั่วถึงกัน ตัวอย่างอุปกรณ์ที่ห้องปฏิบัติการกาลเวสตันใช้เรียกว่า ลามินาร์โฟลว (laminar flow-device) ดังแสดงในภาพที่ 11 อุปกรณ์นี้ประกอบด้วยหัวทราย 3 อัน วางตามแนวขอบด้านใดด้านหนึ่งและอยู่ใต้แผ่นลามินาร์โฟลว ดังนั้นเมื่ออากาศที่ขึ้นมาจากหัวทรายจะตีสู่ให้น้ำให้หมุนเวียนขึ้นมาบนผิวน้ำในถัง และด้วยเหตุอากาศ/น้ำกระทบแผ่นลามินาร์โฟลว ก็จะทำให้มีคลื่นพริ้วบนผิวน้ำน้ำตลอด รวมทั้งก่อให้เกิดการหมุนเวียนของน้ำทั่วทั้งถังเนื่องจากการผุดขึ้นมาของมวลน้ำได้ถึงเป็นตัวช่วยด้วย ในเวลาเดียวกันมวลน้ำบนผิวน้ำจะไหลลงไปแทนที่หรือที่รู้จักกันดีว่าเป็นการเกิดอัพเวลลิง (upwelling)

อาหารที่ใช้เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในช่วงนี้เข้มข้นเพียงครึ่งหนึ่งของปกติ หรืออยู่ในระดับ F/2 (อาหารสูตร กิลลาร์ด) ความเข้มข้นของอาหารอาจเพิ่มหรือลดได้อีกตามความเหมาะสม เช่น ถ้าแพลงก์ตอนพืชในถังเริ่มตายลง ก็ไม่จำเป็นต้องเติมอาหารลงไปอีก และเมื่อใดที่ระดับความหนาแน่นของเซลล์อยู่ในระดับที่ต้องการก็สามารถนำไปเลี้ยงลูกสัตว์น้ำได้ทันที

2. วิธีการกรองน้ำทะเล (Seawater filtration)

ควรคำนึงถึงแหล่งที่มาของน้ำทะเลก่อนวางแผนสร้างอุปกรณ์ เช่น บางพื้นที่ต้องการกรองน้ำตลอดปี ในขณะที่บางพื้นที่อาจทำการกรองน้ำเพียงบางช่วงเวลาในรอบปีก็พอเพียงแล้ว ซึ่งได้แก่พื้นที่ที่น้ำมีอัตราปนเปื้อนน้อย แต่ถ้าจะให้ได้ผลดีที่สุดผู้เลี้ยงควรมีอุปกรณ์กรองน้ำให้ดีที่สุดเท่าที่จะทำได้ และควรกรองน้ำสม่ำเสมอเพื่อให้แน่ใจว่าน้ำที่ใช้เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชมีคุณภาพดีที่สุด ระบบนี้สามารถแยกแพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ และตะกอนในน้ำทะเลที่มีขนาดเล็กถึง 1 ไมครอนได้ ในระบบประกอบด้วยเครื่องกรองน้ำเป็นชุด โดยมีขนาดติดตั้งแต่ใหญ่จนถึงขนาดใหญ่ เครื่องกรองน้ำทุกชนิดเป็นแบบใช้ความดัน ซึ่งปริมาณความดันจะขึ้นอยู่กับขนาดของเครื่องกรอง ยิ่งขนาดตัวเล็กเท่าใดความดันจะเพิ่มขึ้นตามลำดับ บั๊มที่สูบน้ำนิยมใช้ชนิดที่เรียกว่า centrifugal pump ที่มีใบพัดทำด้วยนีโอพรีน (neoprene) ข้อดีของเครื่องสูบน้ำแบบนี้คือ สามารถทนทานต่อความดัน ที่ไหลย้อนกลับได้ดี อีกทั้งส่วนประกอบเครื่องที่ทำด้วยนีโอพรีนจะไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนของโลหะหนักเข้าสู่ระบบน้ำ การซ่อมบำรุงทำได้ง่าย เครื่องกรองควรมีหลายชุด แต่ละชุดควรมีขนาดตัวเล็กลงตามลำดับจนกระทั่งกรองเอาตะกอนเล็กถึง 1 ไมครอนได้ เครื่องกรองน้ำอันแรกประกอบด้วยทรายหยาบ กรวด หรือผงไดอะตอม (diatomaceous earth) เครื่องกรองชุดสุดท้ายจะเป็นแผ่นขนาดตา 1 ไมครอน แผ่นนี้เมื่อใช้ไประยะหนึ่งสามารถถอดออกมาล้างน้ำให้สะอาดแล้วนำกลับไปใช้ได้ อีก ถ้าผู้เลี้ยงมีทุนมากพอ การกรองขั้นสุดท้ายควรใช้แสงอุลตราไวโอเลตซึ่งสามารถกำจัดเชื้อโรคในน้ำได้หมด

3. การฆ่าเชื้อโรค (Sterilization)

น้ำทะเลที่ใช้เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชต้องผ่านขั้นตอนการฆ่าเชื้อเสียก่อน โดยเฉพาะในช่วงการเลี้ยงหัวเชื้อสาหร่าย อุปกรณ์ที่นิยมใช้ฆ่าเชื้อได้แก่ หม้อนึ่งความดัน (autoclave) ซึ่งผู้เลี้ยงต้องรู้จักวิธีใช้เป็นอย่างดี มิฉะนั้นอาจเกิดอันตรายได้ เครื่องแก้วบรรจุอาหารสำหรับใช้กับเครื่องมือชนิดนี้ควรเป็นชนิดทนความร้อนได้ดี ถ้าเป็นการนึ่งฆ่าเชื้อเครื่องแก้วขนาดเล็กกว่า 1 ลิตร เวลาที่ใช้ฆ่าเชื้อนานประมาณ 15 นาที ถ้าความจุของภาชนะมากกว่านี้ (เช่น 20 ลิตร) ต้องใช้เวลาเพิ่มขึ้นถึง 45 นาที การเติมปริมาณอาหารหรือของเหลวไม่ควรจะให้ถึงขอบภาชนะที่ใส่และควรปิดภาชนะด้วยล้าลิ โฟม หรือผ้ากอซ ก็ได้ และควรปิดด้วยกระดาษตะกั่วอีก

ชั้นหนึ่ง หากเป็นไปได้ควรใช้เครื่องแก้วที่มีจุลเกลียวปิดเนื่องจากสะดวกในการทำงาน (การถ่ายเชื้อ) และการเคลื่อนย้าย หลังจากยกภาชนะที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วควรวางทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำไปใช้

วิธีการกำจัดเชื้ออีกวิธีหนึ่งคือการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน นิยมใช้สารละลายที่เรียกว่า คลอโรกซ์ ซึ่งได้ผลดีกับการฆ่าเชื้อสารละลายปริมาณมาก ๆ ความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 1.0-2.0 ส่วนในล้าน (ppm) เมื่อเติมคลอโรกซ์ลงในสารละลายที่ต้องการฆ่าเชื้อแล้วต้องคนให้เข้ากันดีเสียก่อน ในกระบวนการนี้ไม่ต้องให้อากาศ เพราะจะทำให้คลอรีนสลายตัวเร็ว หลังจากปล่อยให้ทิ้งไว้นานประมาณ 24 ชั่วโมง แล้วจึงเริ่มให้อากาศเบา ๆ เพื่อกำจัดคลอรีนที่อาจตกค้างอยู่ให้หมดไป เมื่อให้อากาศนาน 2-3 ชั่วโมงแล้ว ก็สามารถนำสารละลายหรือน้ำทะเลไปใช้ได้ ถ้าเกรงว่าการให้อากาศอาจกำจัดคลอรีนไม่ได้ดีพอจะใช้สารเคมีช่วยก็ได้ เช่นโซเดียมไฮโอซัลเฟต การฆ่าเชื้อด้วยวิธีนี้ใช้ได้ผลดีกับการขยายพันธุ์เตตราเซลมิส และไอโซโครซิส ส่วนวิธีสังเกตว่าการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนได้ผลหรือไม่นั้นให้สังเกตจากข้างถังเลี้ยง ถ้ามีเซลล์ที่ตายแล้วเกาะตามข้างถังแสดงว่ายังมีคลอรีนตกค้างอยู่ ในการฆ่าเชื้ออีกวิธีหนึ่งก็คือใช้แสงอัลตราไวโอเลตวิธีนี้ต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงมากแต่ก็สามารถกำจัดเชื้อได้ทุกชนิด (แบคทีเรีย ไวรัส สปอร์ของจุลินทรีย์ ฯลฯ)

4. วิธีการเลี้ยงแบบปลอดเชื้อ (Aseptic technique)

วิธีการเลี้ยงแบบปลอดเชื้อนั้น ช่วงการย้ายเชื้อ (subculture) และการเพาะเชื้อ (inoculation) มีความสำคัญอย่างยิ่ง โดยทั่วไปได้นำเทคนิคของการย้ายเชื้อในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยามาใช้ในกระบวนการนี้ คือ ปิเปตที่สะอาด ปากคีบ ตะเกียงบุนเส้น หรือตะเกียงอัลกอฮอล์ แสงอัลตราไวโอเลต และตู้ย้ายเชื้อ (transfer hood) ปิเปตควรเป็นชนิดที่ทำด้วยแก้วทนความร้อนและควรเป็นชนิดที่มีขีดบอกปริมาตร (graduated pipette) เวลาเก็บควรมีสลั้หุ้มส่วนบนสุดเพื่อป้องกันการปนเปื้อนหรือถ้าสามารถซื้อปิเปตแบบอโตเมติกมาใช้ได้ยิ่งดี เพราะสามารถดูดสารละลายได้ปริมาตรที่ถูกต้องทุกครั้งและไม่มีการปนเปื้อนเวลาใช้ปากดูดสารละลาย ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วควรเก็บไว้ในภาชนะปิดสนิทและอากาศเข้าไม่ได้ วิธีการหรือขั้นตอนต่อไปนี้เป็นวิธีการที่ใช้ได้ผลดีในการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชแบบปลอดเชื้อ

ก. อุปกรณ์

1. ตู้ย้ายเชื้อแบบปลอดเชื้อ (aseptic transfer hood)
2. สเปรย์ใช้กำจัดเชื้อหรือของเหลวใช้ฆ่าเชื้อ
3. ปิเปตที่ฆ่าเชื้อแล้ว บรรจุในภาชนะที่เก็บ
4. ปากคีบ
5. ตะเกียงบุนเส้น
6. สมุดบันทึก

ข. วิธีการย้ายเชื้อ (หรือเพาะเชื้อ) จากหัวเชื้อสาหร่ายปริมาณตั้งแต่ 0.5-1.0 มิลลิลิตร

1. ปิดแสงอัลตราไวโอเลตที่ตู้ย้ายเชื้อ
2. เปิดฝาตู้ ใช้สเปรย์ฆ่าเชื้อ (เช่น Chlorox™, Amphyl™, Zephyr chloride, etc.) แล้วปิด

ฝาตู้ รออยู่จนครบ 5 นาที

3. เตรียมหลอดแก้วที่บรรจุอาหารสำหรับเลี้ยงสาหร่ายที่เตรียมใหม่ ๆ โดยวางหลอดทั้งหมดไว้บริเวณตู้ย้ายเชื้อ (หลอดแก้วควรเสียบบนตะแกรงพร้อมติดชื่อให้เรียบร้อย)

4. จัดบันทึกข้อมูลในสมุด เช่น ชื่อชนิดสาหร่าย ปริมาตรที่ใช้ในการย้ายเชื้อ จำนวนหลอดแก้ว (test tube) ที่ทำการเพาะเชื้อ
 5. เตรียมหลอดแก้วบรรจุหัวเชื้อสาหร่าย (stock culture) เพื่อย้ายเชื้อ ซึ่งขั้นตอนนี้ควรเตรียมไว้ให้พร้อมก่อนเริ่มขั้นตอนที่ 1 (ควรตรวจสอบคุณภาพของหัวเชื้อสาหร่ายให้เรียบร้อยก่อนการย้ายเชื้ออย่างน้อยเดือนละครั้ง)
 6. จัดวางหลอดแก้วที่บรรจุอาหารสำหรับการเพาะเชื้อและหลอดแก้วที่เป็นหัวเชื้อให้อยู่ในที่อันควร เพื่อป้องกันการผิดพลาดระหว่างการทำงาน
 7. จุดตะเกียงบนเส้นและปรับความสูงของเปลวไฟให้เหมาะสม
 8. แยกหลอดแก้วที่บรรจุหัวเชื้อสาหร่ายมาใส่ตะแกรงต่างหาก วางตะแกรงตรงบริเวณที่จะทำการถ่ายเชื้อ
 9. เปิดฝาภาชนะบรรจุปิเปต ลงปลายภาชนะด้วยตะเกียงบนเส้น
 10. ลงปลายปากคืบแล้วใช้ปากคืบ ๆ ปิเปตความจุ 1 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อออกจากกระบอกเก็บ (ปลายบนของปิเปตควรมีสำลียึดอยู่) ลงไฟที่ปากกระบอกอีกครั้งหนึ่งก่อนปิดฝาดังเดิม
 11. วางปากคืบลงบนผ้าที่สะอาด ๆ ขณะเดียวกันใช้มือขวาถือปิเปต ใช้มือซ้ายหยิบหลอดหัวเชื้อสาหร่าย เขย่าเชื้อสาหร่ายโดยการเขย่าหลอดแบบวน ๆ ใช้นิ้วก้อยมือขวาเปิดจุกหลอดหัวเชื้อสาหร่าย (โดยที่มือขวาก็ยังถือปิเปตอยู่ด้วย)
 12. ลงปลายหลอดหัวเชื้อสาหร่ายด้วยเปลวไฟ ขณะลงไฟให้เอียงหลอดแก้วเล็กน้อยแล้วใช้มือขวาสอดปิเปตลงในหลอดเก็บหัวเชื้อสาหร่าย
 13. ดูดหัวเชื้อสาหร่ายปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร โดยจุ่มปลายปิเปตลงไปกึ่งกลางหลอดเก็บหัวเชื้อสาหร่าย ปิดฝาจุกและวางหลอดไว้ตามเดิม (ขณะดูดหัวเชื้อสาหร่าย นิ้วก้อยมือขวายังถือจุกไว้)
 14. หยิบหลอดแก้วบรรจุอาหารเลี้ยงสาหร่ายขึ้นมา 1 หลอด (ทำการเปิดจุกหลอดแก้วด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 11) ลงไฟปากหลอด เอียงหลอดเล็กน้อยพร้อมกับสอดปิเปตที่มีหัวเชื้อสาหร่ายแล้วหยดหัวเชื้อสาหร่ายลงในหลอด
 15. ระหว่างการหยดหัวเชื้อสาหร่ายระวังอย่าให้ปลายปิเปตแตะกับก้นหลอดแก้วบรรจุอาหาร และถ้ามีหัวเชื้อสาหร่ายค้างอยู่ที่ปลายปิเปต อย่าใช้ปากเป่าเพื่อให้หัวเชื้อออกไปให้หมด
 16. ดึงปิเปตออกจากหลอดแก้ว ลงไฟปากหลอดแก้วที่ทำการเพาะเชื้อแล้วปิดจุกตามเดิม เก็บปิเปตอันที่ใช้แล้วในภาชนะสำหรับบรรจุปิเปตที่ใช้แล้วโดยเฉพาะซึ่งควรวางไว้นอกตู้ย้ายเชื้อ
 17. เขย่าอาหารในหลอดแก้วที่ได้รับการเพาะเชื้อแล้วและวางลงในตะแกรงสำหรับเก็บหลอดแก้ว
 18. หยิบปิเปตอันใหม่สำหรับเตรียมการเพาะเชื้อในหลอดแก้วที่สองต่อไป
 19. เมื่อทำการเพาะเชื้อเสร็จแล้วให้ปิดฝาดูและเปิดหลอดดูดตราไวโอเลต
- เทคนิคการย้ายเชื้อในพลาสติกมีวิธีการเหมือนกับการย้ายเชื้อดังได้กล่าวมาแล้ว เนื่องจากเป็นการเพาะเชื้อปริมาณมากขึ้น เช่น 2.0 มิลลิลิตร ฉะนั้นภาชนะที่ใช้เลี้ยงต้องใหญ่ขึ้นด้วย

ค. วิธีการย้ายเชื้อ (หรือเพาะเชื้อ) โดยใช้หัวเชื้อสาหร่ายปริมาณตั้งแต่ 1.0 มิลลิลิตรขึ้นไป

1. เปิดหม้อหนึ่งความดัน ใช้เวลาอุ่นเครื่องนาน 45 นาที
2. เตรียมขวดแก้วคาร์บอนยี่ห้อสะอาด ความจุ 12 ลิตร
3. เติมน้ำทะเลที่กรองด้วยผ้ากรองขนาดตา 1 ไมครอน ลงในขวดโดยเติมให้ถึงขีด 12 ลิตร ปิดจุกขวดด้วยจุกยางขนาดเบอร์ 12
4. เตรียมชุดให้อากาศสำหรับใช้กับขวดคาร์บอนยี่ห้อผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
5. หากหม้อหนึ่งความดันมีขนาดใหญ่พอที่จะติดอุปกรณ์ให้อากาศลงไปในขวดคาร์บอนยี่ห้อให้ติดอุปกรณ์ดังกล่าวในขวดด้วยระหว่างทำกรหนึ่ง เปิดฝาจุกของช่องเพาะเชื้อ (inoculation port)
6. ถ้าหม้อหนึ่งความดันมีขนาดเล็กไม่สามารถติดอุปกรณ์ให้อากาศลงไปในขวดคาร์บอนยี่ห้อได้ (ตามข้อที่ 5) ให้ห่ออุปกรณ์ให้อากาศทั้งชุดด้วยกระดาษตะกั่วหรือกระดาษทนความร้อน แล้วปิดผนึกห่อด้วยกระดาษกาวทนความร้อน
7. เติมนกรดเกลือ (HCl) ความเข้มข้น 1 N ปริมาตร 12 มิลลิลิตร ลงในขวดคาร์บอนยี่ห้อทุกขวดเพื่อช่วยป้องกันการเกิดคาร์บอนเนตในน้ำทะเลและช่วยให้การฆ่าเชื้อได้ผลดียิ่งขึ้น
8. ทำกรหนึ่งฆ่าเชื้อขวดคาร์บอนยี่ห้อและอุปกรณ์ให้อากาศในของเหลว โดยใช้ความดันต่ำ นานประมาณ 45 นาที ที่อุณหภูมิ 121 °C ที่ความดัน 20 psi
9. เมื่อครบ 45 นาทีแล้ว เปิดฝาหม้อหนึ่ง รีบปิดฝาที่ช่องเพาะเชื้อทันทีโดยหมุนฝาเกลียวให้แน่น และติดอุปกรณ์ให้อากาศในขวดคาร์บอนยี่ห้อให้เรียบร้อย
10. ถ้าไม่ต้องผ่านขั้นตอนที่ 9 ให้รีบแก้ห่อกระดาษบรรจุอุปกรณ์ให้อากาศแล้วบรรจุลงขวดคาร์บอนยี่ห้อทันที ปิดจุกช่องเพาะเชื้อและต่อท่อให้อากาศด้วยหลอดแก้วขึ้นเล็กๆ ขึ้นให้แน่นด้วยที่หนีบ (clamp)
11. นำขวดคาร์บอนยี่ห้อไปวางที่ชั้น ต่อสายให้อากาศ เปิดท่อให้อากาศโดยเริ่มแรกเปิดท่อให้อากาศเพียงน้อยๆ ก่อน
12. ค่อยๆ เพิ่มปริมาณอากาศที่ละน้อยจนได้ระดับที่เหมาะสมจนกระทั่งขวดแก้วเย็นลง วางขวดไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง อากาศจะช่วยปรับ pH ให้อยู่ที่ระดับปกติ (7.8-8.2)

อาหาร	ปริมาณอาหาร	ความเข้มข้นของอาหาร
ไนเตรตและฟอสเฟต	12 มิลลิลิตร	500 F (1,000 ค F/2)
ซิลิเกต	12 มิลลิลิตร	500 F (1,000 ค F/2)
เหล็ก (แร่ธาตุอาหารที่จำเป็น)	12 มิลลิลิตร	500 F (1,000 ค F/2)
ไวดามิน	12 มิลลิลิตร	500 F (1,000 ค F/2)

หมายเหตุ : ควรเก็บแร่ธาตุที่จำเป็น (เหล็ก) และไวดามินในหลอดแก้วในตู้เย็น ส่วนไนเตรตและฟอสเฟตสามารถเก็บนอกตู้เย็น เช่น บนชั้นข้าง ๆ ชั้นวางขวดคาร์บอนยี่ห้อ

13. ในช่วงนี้ควรเตรียมอาหารเพื่อจะเลี้ยงสาหร่าย โดยมีวิธีการเตรียมตามตารางต่อไปนี้

14. เมื่อขวดคาร์บอยเย็นลงแล้วให้ทำการเพาะเชื้อโดยเติมอาหารแต่ละหลอดลงในขวดคาร์บอย

15. นำฟลาสก์ที่บรรจุเชื้อสาหร่าย 4 วัน จากชั้นเขย่าที่เลี้ยงสาหร่าย เขย่าขวดสาหร่ายก่อนเทลงในขวดคาร์บอยทางช่องเพาะเชื้อเป็นอันว่าจบวิธีการเพาะเชื้อปริมาณมาก ๆ

5. วิธีการเพาะเชื้อแบบปกติ (Nonaseptic technique)

เป็นวิธีการเพาะเชื้อในถังเลี้ยงความจุเป็นตัน ซึ่งไม่สามารถนำเทคนิคการเพาะเชื้อแบบปลอดเชื้อมาใช้ได้ วิธีที่ดีที่สุดก็คือต้องพยายามทำความสะอาดถังเลี้ยงให้สะอาดที่สุดเท่าที่จะทำได้ และอีกวิธีหนึ่งที่จะช่วยให้การเลี้ยงได้ผลดีคือควรทำความสะอาดบริเวณวางถังเลี้ยงอย่างน้อยปีละครั้ง การฆ่าเชื้ออาจทำได้หลายวิธี เช่น การสเปรย์สารละลายฆ่าเชื้อไปทั่วห้องปล่อยไว้ประมาณ 3-4 วัน ซึ่งนิยมใช้ Chlorox™ โดยใส่สารละลายคลอโรกซ์ในกระป๋องที่ใช้ฉีดยาฆ่าแมลง ในระหว่างการฆ่าเชื้อห้องเลี้ยงควรเคลื่อนย้ายถังเลี้ยงออกไปให้หมด รวมทั้งนำเทปปิดทับอุปกรณ์ไฟฟ้าให้มิดชิดก่อนทำการสเปรย์ฆ่าเชื้อ

ตัวอย่างวิธีการเพาะเชื้อในถังขนาดความจุ 300 ลิตร

1. ถ่ายน้ำในถังเลี้ยงออกไปให้หมดโดยใช้สายยางฉีดน้ำล้างถังให้สะอาด ควรใช้น้ำจืดเพื่อทำความสะอาดแทนที่จะใช้น้ำทะเล ถ้าใช้น้ำอุ่นยิ่งจะทำให้สะอาดมากยิ่งขึ้น
2. บริเวณที่จะวางถังควรทำความสะอาดด้วยการฉีดน้ำร้อนเพื่อล้างตะกอนและตะไคร่น้ำออกไปให้หมด
3. เทสสารละลายคลอโรกซ์ลงในถังโดยพยายามรดด้านในของถังให้ทั่วปล่อยให้สารละลายคลอโรกซ์อยู่ที่ก้นถัง
4. ใช้แปรงไนลอนขัดด้านในถังและก้นถังให้ทั่ว ควรสวมเสื้อผ้าให้มิดชิดและสวมถุงมือพยายามจุ่มแปรงในคลอโรกซ์บ่อยๆ ระหว่างการขัด ขัดจนตะไคร้หรือเมือกอื่นๆในถังออกจนหมด ปล่อยสารละลายคลอโรกซ์ออกให้หมด ทำการล้างถังหลายๆครั้งด้วยน้ำจนกลิ่นคลอรีนหมด
5. ปล่อยถังให้แห้งสนิทหรือคว่ำถังลง ถังเลี้ยงควรวางอยู่บนยกพื้นเตี้ยด้วยคอนกรีตหรือชั้นทำด้วยไม้
6. เมื่อต้องการใช้ ให้ยกถังเลี้ยงไปวางในห้องหรือบริเวณที่ต้องการเลี้ยง ใส่สายอากาศแอร์สโตนและลูกตุ้มถ่วงน้ำหนัก รวมทั้งอุปกรณ์ลามินาร์โฟลวลงในถังเลี้ยง
7. ฆ่าเชื้อในถังเลี้ยงด้วยแสงอัลตราไวโอเลตนานประมาณ 5 นาที เสร็จแล้วให้นำอุปกรณ์ออกจากถัง
8. ติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศและลามินาร์โฟลว แล้วเติมน้ำลงในถังได้ระดับอุปกรณ์ลามินาร์โฟลวประมาณ 1 นิ้ว แล้วจึงปิดท่อให้อากาศ
9. เติมน้ำโดยเทลงในถังทิ้งไว้ประมาณ 2 นาทีเพื่อให้อาหารกระจายทั่วถึง
10. ยกขวดแก้วคาร์บอยที่ใช้เป็นหัวเชื้อสาหร่ายออกจากชั้น ถอดอุปกรณ์ให้อากาศออกจากขวดทำการเพาะเชื้อในถังใหม่โดยยกขวดเทหัวเชื้อสาหร่ายลงในถัง ตั้งเวลาให้อากาศตามต้องการ

6. วิธีการนับเพื่อประเมินความหนาแน่นหรือผลผลิตของสาหร่ายที่เลี้ยง (Counting/analysis of algal cultures)

การประเมินผลผลิตสาหร่ายเพื่ออนุบาลลูกสัตว์น้ำ โดยทั่วไปต้องอาศัยการประเมินด้วยความชำนาญเฉพาะตนโดยสังเกตความหนาแน่นที่แตกต่างกันในที่นี้จะกล่าวเฉพาะการนับเซลล์โดยใช้สไลด์นับเม็ดเลือดหรือ haemocytometer แต่การประเมินยังทำได้อีกหลายวิธี เช่น ใช้เครื่องนับโคลเตอร์ (Coulter counter) ใช้เครื่องวัดความขุ่น (turbidometer) ใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์เพื่อวัดโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และคลอโรฟิลล์ รวมทั้งการวัดปริมาตรของเซลล์สาหร่าย ข้อเสียของวิธีนี้ต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการทำงานโดยเฉพาะกับเครื่องมือแต่ละชนิด เครื่องมือมีราคาแพง และมีข้อเสียเมื่อเทียบกับวิธีนับโดยตรงก็คือวิธีที่ใช้เครื่องมือทุกวิธีไม่ได้ใช้หลักการสังเกตสาหร่ายด้วยตา ซึ่งเป็นหลักการที่มีประโยชน์มากในการแก้ปัญหาอันอาจเกิดขึ้นทั้งในทางตรงและทางอ้อม

6.1 การเตรียมตัวอย่างสาหร่ายเพื่อการนับ/ประเมินผล

1. เลือกขวดเก็บสาหร่ายที่สะอาดขนาดความจุ 50 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นขนาดที่เหมาะสมที่สุด
2. เขียนชื่อบนขวดให้เรียบร้อย
3. วางขวดเก็บตัวอย่างสาหร่ายในถาดเก็บสาหร่าย
4. ล้างมือให้สะอาดและเช็ดให้แห้ง
5. จุ่มถาดเก็บตัวอย่างในถังเลี้ยง พยายามเอียงถาดในมุมที่เหมาะสมคือไม่ให้นิ้วมือจุ่มลงในน้ำ
6. ทำเช่นนี้หลายครั้งจนเก็บตัวอย่างครบทุกถังที่ต้องการนับ
7. วางถาดเก็บตัวอย่างใกล้ๆ โต๊ะวางกล่องจุลทรรศน์
8. จดบันทึกข้อมูลตามข้อมูลตัวอย่างในภาพที่ 15
9. เช็ดสไลด์นับเม็ดเลือดด้วยกระดาษเช็ดสไลด์ที่จุ่มในแอลกอฮอล์ และเช็ดให้แห้งด้วยกระดาษเช็ดเลนส์
10. เมื่อนับเซลล์สาหร่ายเสร็จแล้วควรทำความสะอาดสไลด์อีกครั้งด้วยวิธีในข้อ 9
11. วางกระจกปิดสไลด์ลงบนแท่งวางกระจกปิดแผ่นสไลด์
12. นำขวดตัวอย่างที่ต้องการนับออกจากถาดถ้าสาหร่ายที่ต้องการนับเป็นชนิดมีหนวด ให้หยดฟอร์มาลิน เข้มข้น 5% 3-5 หยด ลงในขวดตัวอย่างเพื่อลดการเคลื่อนไหวของเซลล์ เขย่าขวดตัวอย่างเล็กน้อย
13. ดูดตัวอย่างออกจากขวดตัวอย่างด้วยปิเปตที่สะอาด หรืออาจใช้หลอดที่ใช้สำหรับเขี่ยเชื้อก็ได้
14. หยดตัวอย่าง 1 หยด ใส่ในช่องใส่ตัวอย่าง (loading port) ตัวอย่างจะกระจายไปทั่วทั้งช่องสำหรับนับ (chamber) หยดตัวอย่างในช่องทั้ง 2 ช่องบนแผ่นสไลด์
15. ถ้าทำการนับหลายครั้ง ควรเปลี่ยนปิเปตใหม่ทุกครั้งก่อนดูดตัวอย่าง ควรวน

ปลายปีเปิดหรือหลุมด้วยเปลวไฟก่อนทิ้งไว้พอเย็นจึงจุ่มลงในขวด และควรเปลี่ยนสไลด์นับตัวอย่างทุกครั้งที่นับ
สำหรับรายด้วย

16. วางสไลด์นับทิ้งไว้ 1 นาทีเพื่อให้เซลล์จมสู่พื้นสไลด์

ตารางที่ 12 ตารางเก็บข้อมูลจากถังเลี้ยงสาหร่าย

(ที่มา : ดัดแปลงจาก Fox,1983)

วัน : จันทร์ เวลา : 8.00 น.

วันที่ : 4 สิงหาคม 2536 ผู้เก็บข้อมูล :

เบอร์ถัง	วัตถุประสงค์ ของการเลี้ยง	จำนวนครั้งที่ เลี้ยง	ชนิดสาหร่าย	ปริมาณ เซลล์/มล.	การปนเปื้อน (Contamination)	
					ลักษณะ	ปริมาณ (เซลล์/ มล.)
1	เก็บผลผลิต	2	เตตราเซลมิส/ ไอโซโครซิส	4.80×10^6	มีสาหร่าย ที่มีหนวด	ประมาณ 2×10^4
2	เก็บผลผลิต	1	เตตราเซลมิส	5.07×10^5	ไม่มี	-
3	ทดลอง	1	สเกลีโตนีมา	1.24×10^6	มีแบคทีเรีย	ปานกลาง
4	ทดลอง	1	สเกลีโตนีมา	1.38×10^6	ไม่มี	-
5	เก็บผลผลิต	2	เตตราเซลมิส/ ไอโซโครซิส	4.57×10^6	มีสาหร่าย ที่มีหนวด	ประมาณ 3×10^4
6	เก็บผลผลิต	1	เตตราเซลมิส/ ไอโซโครซิส	8.74×10^5	ไม่มี	-
7	เก็บผลผลิต	1	เตตราเซลมิส	5.62×10^5	ไม่มี	-
8	เก็บผลผลิต	1	เตตราเซลมิส/ ไอโซโครซิส	8.38×10^5	ไม่มี	-
9	เก็บผลผลิต	1	เตตราเซลมิส	9.80×10^4	มีแบคทีเรีย รูปร่างเป็นแท่ง	น้อย
10	เก็บผลผลิต	2	เตตราเซลมิส	9.45×10^4	ไม่มี	-
11	ทดลอง	1	ธาลาซิโอซีรา	3.72×10^5	มีแบคทีเรีย	มาก
12	ทดลอง	1	ธาลาซิโอซีรา	1.97×10^6	ไม่มี	-

6.2 วิธีการนับเซลล์

- (1) วางแผ่นสไลด์บนแท่นของกล้องจุลทรรศน์
- (2) ใช้เลนส์วัตถุกำลังขยาย 10 x
- (3) เลื่อนแผ่นสไลด์จนกระทั่งตรงกับกริด (grid) แผ่นที่ 1 คูภาพที่ 14 ประกอบ

(4) ตามภาพที่ 14 จะเห็นว่าแผ่นสไลด์ 1 แผ่นมีช่อง (chamber) เพื่อใส่ตัวอย่าง 2 ช่อง แต่ละช่องจะมีกริดทั้งหมด 5 กริด การนับเซลล์สาหร่ายบนแผ่นสไลด์จะขึ้นอยู่กับจำนวนเซลล์ของแต่ละตัวอย่าง คืออาจนับเพียงบางส่วนหรือนับบนพื้นที่ทั้งหมด หลักง่าย ๆ ในการนับคือถ้ามีเซลล์ต่ำกว่า 100 เซลล์ ในแต่ละกริด ให้นับเซลล์ทุกแถวในกริด ที่อยู่รอบนอกทั้ง 4 กริด

แต่ถ้าแต่ละกริดมีจำนวนเซลล์มากกว่า 100 เซลล์ ในแต่ละช่อง (chamber) ให้นับเซลล์ใน 3 แถวนอกของแต่ละกริดโดยให้มีเซลล์ทั้งหมดประมาณ 400 เซลล์ และให้นับ 3 แถวนอกของกริดทั้งด้านซ้ายและด้านขวาของแต่ละช่องด้วย นำตัวเลขจากการนับไปคำนวณหาปริมาณเซลล์ใน 1 มิลลิลิตร

วิธีคำนวณปริมาณเซลล์ มีหลักในการคำนวณโดยใช้หลักในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 หลักในการคำนวณผลการนับเซลล์แฟล็กตอนพีซี (ที่มา : Fox,1983)

จำนวนกริด ที่นับเซลล์	ร้อยละของพื้นที่ กริดที่ทำการนับ	จำนวนเซลล์ ที่นับได้	แฟคเตอร์ ในการหาร	แฟคเตอร์ ยกกำลัง	จำนวนเซลล์ ต่อมิลลิลิตร
4	100	n	4	104	$-(10^4)$
4	75	n	3	104	$-(10^4)$
4	50	n	2	104	$-(10^4)$
4	25	n	1	104	$n(10^4)$

ตัวอย่างวิธีคำนวณ

$$\text{สูตร} \quad \frac{n \times 10,000}{x} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ใน 1 มิลลิลิตร}}{1}$$

เมื่อ n = จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่นับได้

x = ตัวหารซึ่งใช้ค่าร้อยละของพื้นที่ของแต่ละกริด (ใน 4 กริด) ที่นับ

ตัวอย่าง ถ้าจำนวนเซลล์ทั้งหมดที่นับได้ (n) = 480 เซลล์

พื้นที่ร้อยละของกริดที่นับ = 75% (ทั้ง 4 กริด)

จำนวนเซลล์ต่อ 1 มิลลิลิตรจะมีค่าเท่ากับ

$$\frac{(480)}{3} \times \frac{(10,000)}{1} = 1,600,000 \text{ เซลล์/1 มิลลิลิตร}$$

(5) จากขวดตัวอย่าง 1 ขวด นิยมนับเซลล์ 2 ครั้ง (subsamples) แล้วหาค่าเฉลี่ย

(6) ถ้าตำแหน่งของเซลล์อยู่ระหว่างเส้นกริดในพื้นที่ที่ต้องการนับ ให้นับเฉพาะเซลล์ที่พาดอยู่บนเส้นและมีเนื้อที่อยู่ด้านในพื้นที่ที่จะนับมากกว่าครึ่งเซลล์ขึ้นไปเท่านั้น

(7) จุดผลการนับในสมุดบันทึกและหมายเหตุว่าการปนเปื้อนบ้างหรือไม่ ควรตรวจดู

ตัวอย่างเซลล์ที่ไม่ได้ดองด้วยน้ำยาฟอร์มาลินเปรียบเทียบกับ เนื่องจากหากมีการปนเปื้อนจากโปรโตซัวจะไม่สามารถแยกความแตกต่างได้หากว่าเซลล์โปรโตซัวนั้นถูกดองด้วยน้ำยาแล้ว

(8) เอาแผ่นสไลด์นับเม็ดเลือดออกจากแท่นวางตัวอย่าง (stage) ของกล้องที่ใช้ ค่อย ๆ ยกกระจกปิดสไลด์ออก ล้างสไลด์และกระจกปิดด้วยน้ำ ใช้กระดาษเช็ดเลนส์ให้แห้ง

(9) เก็บแผ่นสไลด์และกระจกปิดลงกล่องให้เรียบร้อย

6.7 วิธีการแปรรูปสาหร่ายหรือแพลงก์ตอนพืช

การเลี้ยงสาหร่ายให้ได้ปริมาณมากหากไม่ได้เลี้ยงเพื่อการจำหน่ายโดยตรง บางครั้งก็มีผลผลิตมากเกินไปเกินความต้องการของผู้เลี้ยง หรือผู้เลี้ยงอาจต้องการเลี้ยงเพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สาหร่ายในรูปแบบต่าง ๆ กัน เพื่อเก็บไว้ใช้ในยามขาดแคลนสาหร่ายสดบางฤดูกาลก็ได้ ด้วยวัตถุประสงค์ดังกล่าวแล้วอาจพิจารณาเก็บสาหร่ายสดด้วยวิธีการแช่แข็ง (frozen) หรือเก็บแห้งในรูปของการแช่เยน (freeze-dried) ซึ่งจะอยู่ในรูปของสาหร่ายสด

1. การเก็บแบบแช่เยน

ต้องมีการเติมสารเคมีที่เรียกว่า cryoprotective agents เรียกวิธีการแปรรูปแบบนี้ว่า Cryopreservation เริ่มแรกให้เก็บรวบรวมสาหร่ายจากถังเลี้ยงก่อน โดยอาจเก็บเกี่ยวโดยใช้สารเคมี (chemical flocculation) หรือแยกสาหร่ายออกจากน้ำโดยใช้เครื่องปั่นตะกอน (centrifugation) การใช้สารเคมีจะทำให้สาหร่ายลอยขึ้นบนผิวหน้าน้ำ แล้วใช้สายยางดูดน้ำบนผิวออกจากถังซึ่งจะได้สาหร่ายติดออกมาด้วย ส่วนวิธีการแยกสาหร่ายโดยใช้เครื่องปั่นตะกอนนั้นควรปรับจำนวนรอบของเครื่องปั่นให้เหมาะสมกับชนิดสาหร่ายที่ต้องการนำมาแปรรูป เครื่องมือที่ใช้ปั่นนิยมใช้เครื่องปั่นแบบที่ใช้แยกครีมออกจากนม (standard dairy cream separation) เซลล์สาหร่ายจะจับอยู่เป็นแผ่น ๆ บนหัวของเครื่องปั่น เมื่อถอดส่วนหัวออกมาจะลอกแผ่นสาหร่ายออกได้ นำแผ่นสาหร่ายไปใส่ในภาชนะซึ่งรู้ปริมาตรที่แน่นอน คนให้เข้ากัน คำนวณความหนาแน่นหรือปริมาณเซลล์โดยการนับจำนวนด้วยสไลด์นับเม็ดเลือด บันทึกผลเป็นค่าของชีวมวล (biomass) หรือความหนาแน่นของเซลล์ เมื่อได้ค่าชีวมวลแล้วให้เติมสารเคมีประเภท cryoprotective agent เช่นกลูโคส/กลีเซอรอล และ DMSO (dimethylsulfoxide) ลงในภาชนะที่มีสาหร่าย สารเคมีดังกล่าวมีคุณสมบัติช่วยรักษาสารภายในเซลล์ไม่ให้แตกตัวระหว่างการแช่แข็ง และปริมาตรของเซลล์จะเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในสภาพแช่แข็ง

ขั้นตอนการรักษาคุณสมบัติของเซลล์สาหร่าย โดยการเติมกลูโคส และกลีเซอรอล

การเติมกลูโคส ($C_6H_{12}O_6$)

(1) ใช้กลูโคสความเข้มข้น 2% โดยปริมาตร (V/V)

(2) เติมกลูโคสความเข้มข้น 0.25% ทุก ๆ 10 นาที ลงในสาหร่ายจนกระทั่งได้ความเข้มข้นของกลูโคสเท่ากับ 1% (V/V)

(3) เติมกลูโคสอีก 1% (V/V) 40 นาที หลังจากเมื่อเริ่มต้นครั้งแรก

การเติมกลีเซอรอล ($C_3H_8O_3$)

(1) ใช้กลีเซอรอลความเข้มข้น 2% โดยปริมาตร (V/V)

(2) ค่อย ๆ เติมกลีเซอรอลไปเรื่อย ๆ จนหมด ควรใช้เวลาในการเติมภายในเวลาประมาณ 40 นาที

นำสาหร่ายที่ผ่านการเติมสารเคมีแล้วใส่ในถุงพลาสติก ปริมาณสาหร่ายที่เติมลงในถุงขึ้นอยู่กับจำนวนลูกสัตว์น้ำที่ต้องการเลี้ยง ถ้าเป็นเตตราเซลมิส (*Tetraselmis chuii*) นิยมเก็บในถุงปริมาณ 10,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตรเพื่อใช้ต่อครั้งต่อถึงเลี้ยงลูกสัตว์น้ำความจุ 2,000 ลิตร การแช่แข็งเซลล์สาหร่ายปริมาณน้อย ๆ จะลดอันตรายจากการให้อาหารลูกสัตว์น้ำมากเกินไป และที่อยากจะแนะนำก็คือควรทำการแช่แข็งสาหร่ายหลายระดับความหนาแน่น (เช่นถ้าเป็น *T. chuii* ควรใช้ความหนาแน่น 5,000 ; 10,000 และ 20,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อถุง) จากการศึกษาทดลองเลี้ยงลูกสัตว์น้ำด้วยสาหร่ายแช่แข็งที่สถานปฏิบัติการกาลเวสตันปรากฏว่าได้ผลดีเป็นที่น่าพอใจ

วิธีการให้อาหารลูกสัตว์น้ำโดยใช้สาหร่ายแช่แข็ง

- (1) นับจำนวนเซลล์สาหร่ายในถังเลี้ยงลูกสัตว์น้ำถ้าพบว่ามีความหนาแน่นต่ำกว่าค่าที่กำหนดในแผนการให้อาหารควรให้สาหร่ายแช่แข็งเสริม
- (2) นำสาหร่ายแช่แข็งออกจากตู้ตามปริมาณที่ต้องการ วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้ละลาย ควรใส่สาหร่ายในถังที่มีขีดบอกปริมาตรหรือใช้กรวยที่มีขีดบอกปริมาตรตรง จดบันทึกปริมาตรและความหนาแน่นของเซลล์ (ชีวมวลหรือ biomass)
- (3) ก่อนนำสาหร่ายเข้มข้นมาใช้ควรกวนให้เข้ากันเสียก่อนและนำออกมาเลี้ยงลูกสัตว์น้ำตามปริมาตรที่เหมาะสม

การคำนวณปริมาตรสาหร่ายเข้มข้นใช้สูตรต่อไปนี้ในการคำนวณ

$$\text{สูตร } V_f = \frac{(V_c)(C_f)}{C_c}$$

เมื่อ V_f = ปริมาตรสาหร่ายที่ต้องการนำไปใช้
 V_c = ปริมาตรทั้งหมดของสาหร่ายเข้มข้น
 C_f = จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่ต้องการนำไปใช้
 C_c = จำนวนเซลล์ทั้งหมดของสาหร่ายเข้มข้น

เรื่องที่ต้องคำนึงถึงมากที่สุดคือผลข้างเคียงของสารเคมีที่ผสมกับสาหร่ายในกระบวนการเก็บ เนื่องจากสารเคมีมีคุณสมบัติแตกต่างกันไปตามชนิด บางชนิดเป็นสารละลายเข้มข้นซึ่งช่วยให้แบคทีเรียเจริญเติบโตรวดเร็ว บางชนิดมีคุณสมบัติให้เซลล์สาหร่ายรวมตัวกันได้ดี เป็นต้น

2. วิธีการทำแห้งโดยอาศัยการแช่แข็ง (freeze-drying)

เป็นอีกวิธีหนึ่งในการแปรรูปสาหร่ายเพื่อเก็บไว้ใช้นาน ๆ วิธีนี้ต้องใช้ตู้แช่แข็งชนิดพิเศษที่เรียกว่า freeze-drying equipment ซึ่งมีราคาแพง แต่สาหร่ายที่ได้จะมีคุณภาพดีมาก ก่อนนำสาหร่ายที่ทำแห้งด้วยวิธีนี้ไปใช้ต้องบดให้เป็นผงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10 ไมครอนเสียก่อน แล้วนำผงสาหร่ายนี้ไปละลายน้ำคนให้ทั่วกันประมาณครึ่งชั่วโมงเพื่อป้องกันไม่ไห้สาหร่ายจับกันเป็นก้อนก่อนนำไปให้ลูกสัตว์น้ำกิน การเลี้ยงลูกสัตว์น้ำโดยใช้ผงสาหร่ายต้องคำนวณน้ำหนักแห้งของสาหร่ายที่ใช้ก่อนโดยคิดเป็นจำนวนเซลล์ต่อ 1 มิลลิกรัม

บทที่ 7

รวมสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

7.1 สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงแพลงก์ตอนน้ำจืด

7.1.1 สูตรอาหารเหลว (Liquid Media)

1. สูตรอาหารของอัลเลนที่ปรับปรุงแล้ว (Allen Blue – Green Medium, Modified)

เหมาะสำหรับเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ประกอบด้วยธาตุอาหารต่อไปนี้

ชั่งน้ำหนักของธาตุอาหารทั้งหมด ละลายในน้ำกลั่น 999 มิลลิลิตร

โซเดียมไนเตรด (NaNO_3)	1.59 กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.039 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.075 กรัม
โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	0.02 กรัม
แคลเซียมไนเตรด 4-ไฮเดรต [$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$]	0.02 กรัม
โซเดียมเมตาซิลิเกต 9-ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)	0.058 กรัม
อีดีทีเอ (EDTA)	0.01 กรัม
กรดน้ำส้ม คือ citric acid ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$)	0.06 กรัม
เฟอร์ริกคลอไรด์ (FeCl_3)	0.02 กรัม
สารละลายธาตุอาหารรอง	1.0 มิลลิลิตร

*สารละลายธาตุอาหารรอง ประกอบด้วยธาตุอาหารต่อไปนี้

ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร	1,000 มิลลิลิตร
กรดบอริก (H_3BO_3)	2.86 กรัม
แมงกานีสคลอไรด์ 4-ไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	1.81 กรัม
ซิงค์ซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.222 กรัม
โซเดียมโมลิบเดต 2-ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.391 กรัม
คอปเปอร์ซัลเฟต 5-ไฮเดรต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.079 กรัม
โคบอลท์ไนเตรด 6-ไฮเดรต [$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$]	0.0494 กรัม

ปรับค่า pH ของสารละลายให้มีค่าเท่ากับ 7.8 นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งความดัน (autoclave) ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

ถ้าต้องการเตรียมอาหารแข็ง ให้เตรียมสารละลายดังกล่าวแล้ว แต่ให้มีความเข้มข้นเป็น 2 เท่า และเตรียมสารละลายอื่นให้มีความเข้มข้น 2 เท่าของปกติ นำสารละลายอาหาร 2 อย่างนี้เข้าอบฆ่าเชื้อ แล้วนำสารละลายทั้ง 2 อย่าง ๆ ละเท่า ๆ กันมาผสมกันที่อุณหภูมิ 48°C

2. สูตรอาหารของโบลด์ (Bold's Basal Medium)

สูตรนี้สามารถใช้เลี้ยงสาหร่ายได้หลายกลุ่มได้แก่ สาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และสาหร่ายสีเขียวแกมเหลือง (Chrysophyta) ประกอบด้วยเกลือ 2 ประเภท ดังนี้

2.1 ธาตุอาหารหลัก (Macronutrient)

2.2 ธาตุอาหารที่จำเป็น (Trace element)

2.1 ธาตุอาหารหลัก (Macronutrient) มี 6 ชนิด ได้แก่

โซเดียมไนเตรต (NaNO_3)	10 กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ 2-ไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	1 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	3 กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (K_2HPO_4)	3 กรัม
โมโนโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (KH_2PO_4)	7 กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	1 กรัม
นำเกลือ แต่ละชนิด ละลายในน้ำกลั่นอย่างละ	400 มิลลิลิตร

2.2 ธาตุอาหารที่จำเป็น (Trace element) มีทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่

ก. EDTA stock

ข. H-Fe stock

ค. Boron stock

ง. H-H5 stock

ก. EDTA stock ประกอบด้วย

- EDTA (อีดีทีเอ)	50 กรัม
- โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ความบริสุทธิ์ 85% (KOH)	31 กรัม
นำส่วนประกอบทั้งสองละลายในน้ำ 1 ลิตร	

ข. H-Fe stock ประกอบด้วย

- เฟอริกซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	4.98 กรัม
---	-----------

ละลายเฟอริกซัลเฟตในน้ำที่เป็นกรด 1 ลิตร (แทนการใช้น้ำกลั่นธรรมดา) เตรียมได้โดย

เติมกรดซัลฟูริก (HSO) เข้มข้น 1 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 999 มิลลิลิตร

ค. Boron stock ประกอบด้วย

- กรดบอริก (H_3BO_3)	11.42 กรัม
ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร	

ง. H-H5 stock ประกอบด้วยส่วนประกอบ 5 ชนิด

- ซิงค์ซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	8.82 กรัม
- โมลิบดีนัมออกไซด์ (MoO_3)	0.71 กรัม
- โคบอลท์ไนเตรต 6-ไฮเดรต [$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$]	0.49 กรัม

- แมงกานีสคลอไรด์ 4-ไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 1.44 กรัม

- คอปเปอร์ซัลเฟต 5-ไฮเดรต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 1.57 กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำที่เติมกรด (เตรียมเหมือนข้อ ข.) ปริมาตร 1 ลิตร

วิธีเตรียมอาหาร ผสมสารละลายทั้ง 2 ประเภท เข้าด้วยกัน ดังนี้

สารละลายธาตุอาหารหลัก ชนิดละ 10 มิลลิลิตร (6 ชนิด)

สารละลายธาตุอาหารที่จำเป็น ชนิดละ 1 มิลลิลิตร (4 ชนิด)

เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร

3. สูตรอาหารบริสตอล (Bristol Medium)

สูตรอาหารบริสตอลเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงสาหร่ายน้ำจืดทั่วไป มีส่วนประกอบเหมือนสูตรอาหารของโบลด์แต่นำน้ำใสๆ ที่เตรียมจากละลายดินในน้ำจืด (soil-water supernatant) แทนสารละลายธาตุอาหารที่จำเป็น (trace element solution) สูตรอาหารบริสตอล มีดังนี้

โซเดียมไนเตรต (NaNO_3) 10 กรัม

แคลเซียมคลอไรด์ 2-ไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 1 กรัม

แมกนีเซียมซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 2 กรัม

ไดโบสเฟสเฟสไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 4 กรัม

โมโนโบสเฟสเฟสไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 6 กรัม

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 1 กรัม

น้ำเกลือ แต่ละชนิด ละลายในน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร

การเตรียมอาหารสูตรนี้ให้นำสารละลายจากเกลือ 6 ชนิดๆ ละ 10 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำใสๆ จากสารละลายดิน 50 มิลลิลิตร แล้วจึงเติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

วิธีเตรียมน้ำใสๆ จากสารละลายดิน

ใช้ดินปลูกต้นไม้ที่มีความชื้นพอสมควรและไม่มีสารเคมี ถ้าใช้ดินจากสวนให้ขุดลงไปลึกพอสมควร ใส่ดินลงในขวดแก้วก้นกลมให้สูงประมาณครึ่งนิ้ว เติมน้ำขาว (CaCO_3) เพื่อปรับ pH ของดิน ใช้เล็กน้อยหรือประมาณหยิบมือ เติมน้ำลงในขวดประมาณสามในสี่ของความจุของขวด ปิดจุก นำไปต้มประมาณ 2 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปิดจุก นำไปต้มอีกครั้งนานประมาณ 2 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น วันรุ่งขึ้นให้ทำซ้ำอีกครั้ง ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนแล้วจึงรินแต่น้ำใสๆ ตอนบนมาใช้

4. สูตรอาหารของชู เบอร์ 10 (Chu No. 10 Medium)

เป็นสูตรอาหารที่สามารถเลี้ยงสาหร่ายได้หลายกลุ่มได้แก่ ไดอะตอม สาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีเขียวแกมเหลือง (Chrysophyta) และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน มีส่วนประกอบดังต่อไปนี้

แคลเซียมไนเตรต 4-ไฮเดรต [$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$] 0.04 กรัม

ไดโบสเฟสเฟสไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) 0.01 กรัม

แมกนีเซียมซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.025 กรัม

โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 0.02 กรัม

โซเดียมเมตาซิลิเกต (Na_2SiO_3)	0.025 กรัม
เฟอริกคลอไรด์ (FeCl_3)	0.8 กรัม
เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร	

5. สูตรอาหารของชู เบอร์ 10 สูตรปรับปรุง (Modified Chu No. 10 Medium)

ประกอบด้วย สารละลายของเกลือ 3 ประเภท ได้แก่

5.1 สารละลายสต็อก (Stock solution)

แคลเซียมคลอไรด์ 2-ไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	3.67 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	3.69 กรัม
โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3)	1.26 กรัม
ไดโบแทสเซียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (KH_2PO_4)	0.87 กรัม
โซเดียมไนเตรต (NaNO_3)	8.5 กรัม
โซเดียมเมตาซิลิเกต 9-ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)	2.84 กรัม

นำเกลือแต่ละชนิดละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายไปฆ่าเชื้อ

5.2 สารละลายเหล็ก (Iron solution)

ละลายกรดน้ำส้ม Acetic acid ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$, H_2O) 3.35 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วเติมเฟอริกซิเตรต ($\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_3$, $5\text{H}_2\text{O}$) 3.35 กรัม นำไปอบฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน รินสารละลายที่ฆ่าเชื้อแล้วใส่หลอดที่ปลอดเชื้อ หุ้มหลอดด้วยกระดาษตะกั่วแล้วเก็บไว้ในตู้เย็น

5.3 สารละลายแร่ธาตุที่จำเป็น (Trace element solution)

คอปเปอร์ซัลเฟต 5-ไฮเดรต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	19.6 กรัม
ซิงค์ซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	44.0 กรัม
โคบอลท์คลอไรด์ 6-ไฮเดรต [$\text{Co}(\text{Cl}_2)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$]	20.0 กรัม
แมงกานีสคลอไรด์ 4-ไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	36.0 กรัม
โซเดียมโมลิบเดต 2-ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	12.6 กรัม
กรดบอริก (H_3BO_3)	618.4 กรัม

วิธีเตรียมอาหาร ผสมสารละลายทั้ง 3 ประเภทเข้าด้วยกัน ดังนี้

- ผสมสารละลายสต็อก (ข้อ 5.1) 6 ชนิดๆ ละ 1 มิลลิลิตร กับน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร
- เติมสารละลายเหล็ก (ข้อ 5.2) 1 มิลลิลิตร
- แล้วสารละลายแร่ธาตุที่จำเป็น (ข้อ 5.3) 1 มิลลิลิตร

6. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อคลอสทีเรียม (Closterium Medium)

สูตรนี้เหมาะสำหรับเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวในกลุ่มคลอสทีเรียม สกุล *Closterium* มีส่วนประกอบดังนี้

แคลเซียมไนเตรต 4-ไฮเดรต [$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$]	0.15 กรัม
โบแทสเซียมไนเตรต	0.10 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.04 กรัม

เบต้า – โซเดียมกลีเซอโรฟอสเฟต 5 – ไฮเดรต ($C_3H_7Na_2O_6P, 5H_2O$)

(β - Sodium glycerophosphate 5 - hydrate) 0.05 กรัม

ไวตามินบี 12 0.1 กรัม

ไบโอติน (Biotin) 0.1 กรัม

ไทอามีน ไฮโดรคลอไรด์ (Thiamine HCl) 10.0 กรัม

* P – IV metals 3.0 กรัม

เดมทริส บัฟเฟอร์ 2-amino-2 (hydroxymethyl-1, 2-propanediol) 0.5 กรัม เพื่อปรับค่า

ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ให้เป็น 7.5

* วิธีเตรียม P-IV metals

ละลายโซเดียมอีดีทีเอ (Na_2 EDTA) 0.75 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เมื่อละลาย
หมดแล้วให้เติมเกลือตามน้ำหนักที่กำหนด ดังนี้

เฟอร์ริกคลอไรด์ 6-ไฮเดรต ($FeCl_3, 6H_2O$) 97 กรัม

แมงกานีส คลอไรด์ 4-ไฮเดรต ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$) 41 กรัม

ซิงค์คลอไรด์ ($ZnCl_2$) 5 กรัม

แคลเซียมคลอไรด์ 6-ไฮเดรต ($CaCl_2 \cdot 6H_2O$) 2 กรัม

โซเดียมโมลิบเดต (Na_2MoO_4) 4 กรัม

7. สูตรอาหารปลาป่น (Fishmeal Medium)

เป็นสูตรที่เหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับเลี้ยงสาหร่ายใน Oder Volvocales เช่น พวก *Volvox* และ *Eudorina* เป็นต้นประกอบด้วยสต็อกของสารละลาย 2 ประเภทดังนี้

ก. สต็อกสารละลายสกัดจากดินและปลาป่น : ละลายปลาป่น $\frac{1}{4}$ ช้อนโต๊ะ และดิน 2 ช้อนโต๊ะ
นำไปต้มแล้วปล่อยให้สารละลายเย็นแล้วกรองเอาตะกอนออก เก็บน้ำใสที่กรองไว้ในตู้เย็น

ข. สต็อกเฟอร์ริกคลอไรด์ : ละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 0.1 กรัมในน้ำ 100 มิลลิลิตร

วิธีเตรียมอาหาร ผสมสารละลายในข้อ ก. และ ข. ดังนี้

นำสต็อกข้อ ก. 100 มิลลิลิตร ผสมกับสต็อกข้อ ข. 5 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกรองปริมาตร 1,000
มิลลิลิตร ใส่สารละลายที่ผสมแล้วในภาชนะนำไปอบฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน
15 นาที

8. สูตรอาหารสารละลายดิน (Soil – Water Medium)

สูตรอาหารนี้เหมาะสมสำหรับเลี้ยงสาหร่ายที่ต้องการเก็บรักษาระยะยาวและสามารถเลี้ยงสาหร่ายได้ทุก
โพลัม มีวิธีเตรียมดังนี้

ก. ใส่ปูนขาว ($CaCO_3$) เล็กน้อย หรือประมาณหยิบมือ (ถ้าดินที่ใช้มีฤทธิ์เป็นด่างไม่จำเป็นต้องใส่
ปูนขาว) ลงในขวดแก้วก้นกลมสำหรับเลี้ยงสาหร่าย

ข. นำดินปลูกต้นไม้ (ที่ไม่มีปุ๋ยวิทยาศาสตร์ ยาฆ่าแมลง และยาฆ่าวัชพืชปะปนอยู่) ใส่ในขวดที่มี
ความสูงประมาณ $\frac{1}{2}$ นิ้ว ไม่ควรใช้ดินผสมที่มีใบไม้หรือหญ้าแห้ง

- ค. เติมน้ำลงในขวดให้สูงประมาณ $3/4$ ขวด ปิดจุก น้ำที่ใช้อาจเป็นน้ำกลั่นหรือน้ำบ่อที่กรองแล้ว
 ง. นำไปต้มให้เดือดนานประมาณ 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น แล้ววันรุ่งขึ้นให้เติมน้ำในขวดซ้ำอีกครั้ง
 จ. ตั้งส่วนผสมไว้ให้ตกตะกอน รินแต่น้ำใส ๆ ตอนบนของขวดมาใช้

ถ้าจะเลี้ยงสาหร่ายสกุล *Euglena*, *Trachelomonas* ซึ่งต้องการสารประกอบไนโตรเจนหรือคาร์บอนมาก ควรเติมดินที่ผสมเปลือกถั่วอีกประมาณ $1/4 - 1/2$ ส่วนของดินที่ใช้ จะช่วยให้สาหร่ายที่เลี้ยงเติบโตเร็วขึ้น

ถ้าต้องการเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวที่เป็นเส้นสกุล *Spirogyra* และ *Zygnema* หรือสกุลที่ชอบขึ้นในน้ำที่เป็นกรด ไม่ต้องเติมปูนขาวแต่เติมไปไม้ผุเล็กน้อยในดินแทน

9. สูตรอาหารเลี้ยงวอลวอกซ์ (Volvox Medium)

สูตรอาหารนี้ใช้เลี้ยงสาหร่ายสีเขียว สกุล Volvox โดยเฉพาะ มีส่วนประกอบดังนี้

แคลเซียมไนเตรต (ใช้ 11.8 กรัม / น้ำ 100 มิลลิลิตร)	1 มิลลิลิตร
แมกนีเซียมซัลเฟต (ใช้ 4 กรัม / น้ำ 100 มิลลิลิตร)	1 มิลลิลิตร
โซเดียมกลีเซอโรฟอสเฟต (ใช้ 5 กรัม / น้ำ 100 มิลลิลิตร)	1 มิลลิลิตร
โปแตสเซียมคลอไรด์ (ใช้ 5 กรัม / น้ำ 100 มิลลิลิตร)	1 มิลลิลิตร
กลีซิลกลีซีน (ใช้ 5 กรัม / น้ำ 100 มิลลิลิตร)	10 มิลลิลิตร
ไบโอติน (ละลายวิตามิน 25 ไมโครกรัม / น้ำ 100 มิลลิลิตร)	1 มิลลิลิตร
วิตามินบี 12 (ละลายวิตามิน 15 ไมโครกรัม / น้ำ 100 มิลลิลิตร)	1 มิลลิลิตร
แรธาตุ P-IV	3 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	981 มิลลิลิตร

ปรับ pH ของสารละลายที่เตรียมได้ให้เป็นกลาง (pH = 7.0) ด้วย 1 N NaOH

10. สูตรอาหารเลี้ยงคลอเรลลา (Chlorella Medium)

สาหร่ายเซลล์เดียวสกุลคลอเรลลาเจริญเติบโตได้ในอาหารหลายสูตร แต่สูตรนี้เป็นสูตรอาหารที่เลี้ยงคลอเรลลาได้ดี โดยมีส่วนประกอบของอาหารดังนี้

โพแตสเซียมไนเตรต (KNO_3)	1.250 กรัม
โมโนโพแตสเซียมไดไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (KH_2PO_4)	1.250 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1.000 กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2)	0.084 กรัม
กรดบอริก (H_3BO_3)	0.114 กรัม
เฟอร์รัสซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.050 กรัม
ซิงค์ซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.088 กรัม
แมงกานีสคลอไรด์ 4-ไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	0.014 กรัม
โมลิบดีนัมออกไซด์ (MoO_3)	0.007 กรัม
คอปเปอร์ซัลเฟต 5-ไฮเดรต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.016 กรัม
โคบอลท์ไนเตรต 6-ไฮเดรต [$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$]	0.005 กรัม

อีดีทีเอ (EDTA) 0.500 กรัม

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร และปรับ pH ให้เท่ากับ 6.8

11. สูตรอาหารซาร์รูค (Zarrouk Medium)

เป็นสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สกุล *Spirulina* ในห้องปฏิบัติการโดยเฉพาะ มีส่วนประกอบดังนี้

ก. สารละลายสต็อก

โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3)	16.8 กรัม
ไดโปรตัสเซียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.5 กรัม
(หรือละลายเกลือ 10 กรัม / น้ำ 100 ลิตร นำไปใช้ 5 มิลลิลิตร)	
โซเดียมไนเตรต (NaNO_3)	2.5 กรัม
โปตัสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)	1 กรัม
(หรือละลายเกลือ 10 กรัม / น้ำ 100 ลิตร นำไปใช้ 10 มิลลิลิตร)	
เกลือแกง (NaCl)	1 กรัม
(หรือละลายเกลือแกง 12.5 กรัม / น้ำ 100 ลิตร นำไปใช้ 8 มิลลิลิตร)	
แมกนีเซียมซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.2 กรัม
(หรือละลายเกลือ 4 กรัม / น้ำ 100 ลิตร นำไปใช้ 5 มิลลิลิตร)	
แคลเซียมคลอไรด์ 2-ไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.04 กรัม
(หรือละลายเกลือ 2 กรัม / น้ำ 100 ลิตร นำไปใช้ 2 มิลลิลิตร)	
* เฟอรัสซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.01 กรัม
โซเดียมอีดีทีเอ 2-ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.08 กรัม

ข. สารละลาย A5

A5	1 มิลลิลิตร
----	-------------

ค. สารละลาย B6

B6	1 มิลลิลิตร
----	-------------

ละลายส่วนผสมข้อ ก - ค ให้เข้ากัน แล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

* วิธีเตรียมสารละลายเฟอรัสซัลเฟต ทำดังนี้

ละลายเฟอรัสซัลเฟต 0.2 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และละลายโซเดียมอีดีทีเอ 1.6 กรัมในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วผสมสารละลายที่เตรียมได้ทั้งสองอย่างเข้าด้วยกัน นำไปใช้ในปริมาณ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร

วิธีเตรียมสารละลาย A5 (ข.) โดยละลายเกลือ 5 ชนิดต่อไปนี้ เข้าด้วยกัน

กรดบอริก (H_3BO_3)	2.85 กรัม
แมงกานีสคลอไรด์ 4-ไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	1.81 กรัม
ซิงค์ซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.22 กรัม
คอปเปอร์ซัลเฟต 5-ไฮเดรต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.08 กรัม

โมลิบดีนัมออกไซด์ (MoO_3) 0.015 กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

วิธีเตรียมสารละลาย B6 (ค.) โดยละลายเกลือ 6 ชนิดดังต่อไปนี้ เข้าด้วยกัน

แอมโมเนียมวานาเดต (NH_4VO_3) 230.0 ไมโครกรัม

โปแตสเซียมไดโครเมตซัลเฟต 24-ไฮเดรต [$\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$] 960.0 ไมโครกรัม

นิกเกิลซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 478.5 ไมโครกรัม

โซเดียมทังสเตต 2-ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 179.4 ไมโครกรัม

ทิตาเนียมซัลเฟต [$\text{Ti}_2(\text{SO}_4)_3$] 400.0 ไมโครกรัม

โคบอลท์ไนเตรต 6-ไฮเดรต [$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$] 439.8 ไมโครกรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

ถ้าต้องการขยายพันธุ์ *Spirulina* ให้ได้ปริมาณมาก (mass culture) ให้ใช้สูตรอาหารตามทีกล่าวมาแล้ว แต่ไม่ต้องใช้สารละลาย A5 และ B6 โดยใช้รำนกสารประกอบ / น้ำ เป็น กิโลกรัม / คิวบิกเมตร และไม่ต้องใช้แคลเซียมคลอไรด์ 2-ไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ในกรณีที่น้ำที่ใช้มีความกระด้างอยู่แล้ว

12. สูตรอาหารเลี้ยง *Euglena gracilis* (E. gracilis Medium)

ประกอบด้วยสารอาหาร 5 ชนิดดังนี้

โซเดียมอะซิเตท ชนิดที่มีน้ำ ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0.01 กรัม

(Sodium acetatehydrated)

เนื้อวัวผง (beef extract) 0.1 กรัม

ยีสต์ผง 0.2 กรัม

แบคโททริปโตน (Bactotryptone) 0.2 กรัม

แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) 0.001 กรัม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรถ้าต้องการทำเป็นอาหารแข็งให้เติมผงวุ้น 15

กรัม

13. สูตรเลี้ยง *Chlamydomonas reinhardtii* (C. reinhardtii Medium)

ก. สารละลายสต็อก

แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) 0.05 กรัม

แมกนีเซียมซัลเฟต 7 - ไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.02 กรัม

แคลเซียมคลอไรด์ 2 - ไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0.01 กรัม

ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (K_2HPO_4) 0.72 กรัม

ข. ธาตุอาหารรองฮัทเนอร์ (Hutner's trace element)

ละลายเกลือในข้อ ก. เติมหาตุอาหารรองของฮัทเนอร์ 1 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ

1,000 มิลลิลิตร

วิธีเตรียมธาตุอาหารรองฮัทเนอร์ (Hutner's trace element solution)

ประกอบด้วยสารอาหารต่อไปนี้

อีดีทีเอ (EDTA)	50.0 กรัม
ซิงค์ซัลเฟต 7 - ไฮเดรต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	22.00 กรัม
กรดบอริก (H_3BO_3)	11.4 กรัม
แมงกานีสคลอไรด์ 4 - ไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	5.1 กรัม
เฟอร์รัสซัลเฟต 7 - ไฮเดรต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	5.0 กรัม
โคบอลต์คลอไรด์ 6 - ไฮเดรต ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	1.6 กรัม
คอปเปอร์ซัลเฟต 5 - ไฮเดรต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	1.6 กรัม
แอมโมเนียโมลิบเดต 4 - ไฮเดรต $[(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$	1.1 กรัม
น้ำกลั่น	750 มิลลิลิตร

ต้มส่วนผสมจนเดือด ยกวางทิ้งไว้ให้เย็น ปรับค่า pH ให้มีค่าประมาณ 6.5 - 6.8 ด้วยต่าง KOH (ห้ามใช้ NaOH) รินน้ำใส่ ๗ ตอนบนออกแล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร สารละลายนี้ควรมีสีเขียวและเมื่อตั้งทิ้งไว้จะมี มีมวง สามารถเก็บไว้ได้นาน 1 ปี

14. สูตรอาหารเลี้ยง *Ochromonas* (*Ochromonas* Medium)

กลูโคส	10.0 กรัม
ทริปโทน (Tryptone)	1.0 กรัม
ผงยีสต์	1.0 กรัม
ตับผง	4.0 มิลลิลิตร

15. สูตรอาหารเลี้ยงไดอะตอม *Phaeodactylum* / *Nitzschia* (*Phaeodactylum* / *Nitzschia* Medium)

มีส่วนประกอบของสูตรอาหารคล้ายกับสูตรอาหารเอ เอส พี - 6 สูตรปรับปรุงของโปรวาไซลี หน้า 114

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต 7 - ไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1.2 กรัม
โซเดียมไนเตรด (NaNO_3)	1.0 กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	0.6 กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2)	0.3 กรัม
ไดโบแตสเซียมไฮโดรเจนออร์โธฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.1 กรัม
ทริส [Tris (Hydroxymethyl) amino methanol]	0.1 กรัม
* แร่ธาตุรอง	10 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

* วิธีเตรียมสารละลายของแร่ธาตุรอง

โซเดียมอีดีทีเอ (Na_2EDTA)	3.0 กรัม
กรดบอริก (H_3BO_3)	0.6 กรัม
เฟอร์รัสซัลเฟต 7 - ไฮเดรต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.2 กรัม
แมงกานีสคลอไรด์ 4 - ไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	0.14 กรัม
ซิงค์ซัลเฟต 7 - ไฮเดรต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.033 กรัม

โคบอลไนเตรท 6 - ไฮเดรต $[\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ 0.0007 กรัม

คอปเปอร์ซัลเฟต 5 - ไฮเดรต $(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O})$ 0.0002 กรัม

นำส่วนผสมละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

16. สูตรอาหาร บีจี - 11 (BG - 11 Medium)

สูตรอาหารนี้นิยมใช้เลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue green algae) ซึ่งให้ผลการเลี้ยงที่ดีมาก จึงเป็นที่นิยมใช้กันแพร่หลาย มีรายละเอียดดังนี้

ส่วนผสม (Ingredient)	ความเข้มข้น (Concentration)	
โซเดียมไนเตรด (NaNO_3)	1.5 กรัม/ลิตร	17.65 มิลลิโมลล์
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต	0.04 กรัม/ลิตร	0.18 มิลลิโมลล์
7 - ไฮเดรต ($\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)		
แมงกานีสคลอไรด์ 7 - ไฮเดรต	0.075 กรัม/ลิตร	0.30 มิลลิโมลล์
($\text{MnCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)		
แคลเซียมคลอไรด์ 2 - ไฮเดรต	0.036 กรัม/ลิตร	0.25 มิลลิโมลล์
($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)		
กรดซิตริก ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$)	0.006 กรัม/ลิตร	0.30 มิลลิโมลล์
เฟอริกแอมโมเนียมซิเตรต	0.006 กรัม/ลิตร	0.30 มิลลิโมลล์
(Ferric ammonium citrate)		
ไดโซเดียมแมกนีเซียม EDTA	0.001 กรัม/ลิตร	0.003 มิลลิโมลล์
โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	0.02 กรัม/ลิตร	0.19 มิลลิโมลล์
*Trace Metal Mix A5 + Co	1 มิลลิลิตร	
Deionized water เติมน้ำให้ครบ	1 ลิตร	

สารละลายสูตรอาหารนี้หลังผ่านการนึ่งในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) และเย็นแล้ว pH จะเท่ากับ 7.4

*Trace Metal Mix A5 + Co ใช้ได้ทั่วไป ทั่ว กับอาหารสูตรต่าง ๆ (Media) เตรียมได้โดยใช้สารเป็นหน่วย กรัมต่อลิตร มีสารต่าง ๆ ดังนี้

กรดบอริก (H_3BO_3)	2.86 กรัมต่อลิตร
แมงกานีสคลอไรด์ 4 - ไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	1.81 กรัมต่อลิตร
ซิงค์ซัลเฟต 7 - ไฮเดรต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.222 กรัมต่อลิตร
โซเดียมโมลิบเดต 2 - ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.390 กรัมต่อลิตร
คอปเปอร์ซัลเฟต 5 - ไฮเดรต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.079 กรัมต่อลิตร
โคบอลไนเตรท 6 - ไฮเดรต $[\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$	0.049 กรัมต่อลิตร

สูตรอาหารสูตรนี้เตรียมได้จากการเตรียมสต็อกสารละลาย (Stock solution) ของแต่ละสารเคมีไว้ก่อนแล้ว ซึ่งสามารถเก็บไว้ใช้ได้ที่อุณหภูมิ 4 °C

โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) ที่ใช้ ต้องผ่านการกรองฆ่าเชื้อ (filter - sterilized) โดยกรองด้วยมิลลิ-พอร์ ฟิลเตอร์ (Millipore filter) ใช้กระดาษกรองขนาดตา 22 ไมครอน และใส่สารละลายที่กรองแล้วลงในสารอาหาร BG - 11o หรือ RG 11 1/2 ก่อนนำไปใช้

การเตรียมเป็นอาหารแข็งทำได้โดยใช้ BG - 11 (หรือ BG -11o) และวุ้น washed agar เข้มข้น 2 เท่า นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclaved) โดยนึ่งแยกกัน จากนั้นนำทั้งสองอย่างมาผสมกัน และเติม 5 mM NaHCO_3 ก่อนจะเทลงในจานแก้ว (plate) ความเข้มข้นสุดท้ายของสารอาหาร : BG - 11 1/2 (หรือ BG-11o) + 0.8% washed agar + 5mM NaHCO_3

Washed Agar ที่ใช้คือ Sigma (catalog no. A-8678) Agelose (1% w/v) ก็อาจใช้ได้ แต่สำหรับจะเติบโตได้น้อยกว่า

น้ำที่ใช้ในการเตรียมสูตรอาหารนี้มีความสำคัญมาก ควรเป็นน้ำที่ treated ด้วยเครื่องกรองฆ่าเชื้อแบบ มิลลิ - พอร์ ซุปเปอร์ คิว (Millipore Super Q System) หรือเป็นน้ำที่ผ่านกระบวนการไพโรไลซิส (Pyroclized) หรือเทียบเท่าก็ได้

เครื่องแก้วต่าง ๆ ที่ใช้ในการเตรียมสารอาหาร ต้องผ่านการล้างจนสะอาดและแห้งสนิท

สูตรอาหารสูตรนี้เป็นของเหลว (solution) โดยปกติใส่ในหลอดแก้ว (tubes) 8 มิลลิลิตร ของสารอาหารที่ฆ่าเชื้อแล้ว (BG - 11 1/2 +5 mM NaHCO_3 หรือ BG -11o + 5mM NaHCO_3) ต่อหลอดมีฝาปิด ความจุ 16 มิลลิลิตร

หมายเหตุ BG - 11o หมายถึงอาหารที่มีความเข้มข้นครบตามสูตร ส่วน BG -11 1/2 หมายถึงอาหารที่มีความเข้มข้นเพียงครึ่งหนึ่งตามสูตร

7.1.2 สูตรอาหารแข็ง (Solid Media)

ถ้าต้องการอาหารแข็ง ให้เติมวุ้นลงในอาหารเหลวตามสูตรต่าง ๆ ข้างต้น (คือสูตร 1 - 15 ที่กล่าวมาแล้ว) ประมาณ 1.5 % (หรือใช้วุ้นหนัก 15 กรัม ต่ออาหารเหลว 1 ลิตร) และยังมีสูตรอาหารแข็งอื่นอีกดังนี้

17. โปรทีโอส อาการ์ (Proteose Agar)

เป็นอาหารที่ปลอดเชื้อนิยมใช้เลี้ยงคลอเรลลาหรือสาหร่ายชนิดอื่น

สูตรอาหารของโบลด์ (Bolds basal medium)	1,000 มิลลิลิตร
โปรทีโอส เปปโตน (proteose peptone)	1 กรัม
วุ้นผง(agar)	15 กรัม

18. อาหารวุ้นจากสารละลายดิน

น้ำใส ๆ จากสารละลายดิน	40 มิลลิลิตร
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ(Inorganic medium) สูตรใดสูตรหนึ่งข้างต้น	960 มิลลิลิตร
วุ้นผง (agar)	15 กรัม

7.2 สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงแพลงก์ตอนน้ำเค็ม

7.2.1 สูตรอาหารเหลว (Liquid Media)

1. สูตรอาหารเอิร์ดชไรเบอร์ (Erdschreiber Medium)

ใช้เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชได้หลายชนิดทั้งเซลล์เดี่ยวที่มีหนวด หรือไม่มีหนวดและพวกขึ้นติดพื้น (benthic species) มีส่วนประกอบ ดังนี้

* น้ำใสๆ จากสารละลายดิน (Soil-water supernatant)	50 มิลลิลิตร
โซเดียมไนเตรต (NaNO_3)	0.2 กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต 12-ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	0.03 กรัม
น้ำทะเลกรอง (filtered seawater)	1,000 มิลลิลิตร
วิธีเตรียมอาหาร	

วันที่ 1: กรองน้ำทะเลโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วจึงต้มที่อุณหภูมิ 73 °C ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

วันที่ 2: ต้มน้ำทะเลอีกครั้งที่อุณหภูมิ 73 °C

ละลายเกลือโซเดียมไนเตรตและไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟตโดยแยกกัน

ละลายน้ำ ในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นของสารละลาย 1 มิลลิลิตร ซึ่งเท่ากับ ปริมาณเกลือกที่กำหนดไว้ในสูตร แล้วนำเข้าอบฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน

วันที่ 3: เติมสารละลายเกลือกทั้งสองลงในน้ำใสๆ ที่รินจากสารละลายดิน (ซึ่งปล่อยให้ ตกตะกอน แล้ว) แล้วจึงผสมลงในน้ำทะเลที่ต้มซึ่งทำให้เย็นแล้ว

* น้ำใสๆ ที่รินจากสารละลายดิน มีวิธีเตรียมในหน้า 101 อาจใช้สารละลายเหล็กหรือแร่ธาตุ ที่จำเป็น (trace metals) อย่างอื่น และวิตามินแทนน้ำใสๆ จากสารละลายดินได้

2. สูตรอาหารของกิลลาร์ด (Guillard medium หรือ "F/2")

สูตรนี้เหมาะสำหรับเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการคัดพันธุ์ (isolation) และเพื่อเลี้ยงสาหร่ายได้หลายชนิดทั้ง ชนิดเซลล์เดี่ยวและที่เป็นเส้น ใช้เลี้ยงเพื่อเก็บหัวเชื้อ (stock) ไดอะตอม เช่น คีโตเซอรอส และสเกลโลไดนีมา ประกอบด้วยสารละลายเกลือก 3 ส่วนได้แก่

ก. สารละลายส่วนที่ 1

โซเดียมไนเตรต (NaNO_3)	42.074 กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	3.0 กรัม
เฟอริกคลอไรด์ (FeCl_3)	1.45 กรัม
โซเดียมอีดีทีเอ (Na_2EDTA)	5.0 กรัม
วิตามินบี 1	0.2 มิลลิกรัม
วิตามินบี 12	0.001 มิลลิกรัม
ไบโอติน (Biotin)	0.05 มิลลิกรัม
เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร	

ข. สารละลายส่วนที่ 2

คอปเปอร์ซัลเฟต 5-ไฮเดรต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	1.96 กรัม
ซิงค์ซัลเฟต (ZnSO_4)	4.40 กรัม
โซเดียมโบรไมด์ 2-ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	1.26 กรัม
[ถ้าใช้แอมโมเนียมโมลิบเดต 4-ไฮเดรต ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) แทนให้ใช้น้ำหนัก 6.43 กรัม]	
แมงกานีสคลอไรด์ 4-ไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	36.0 กรัม
โคบอลต์คลอไรด์ 6-ไฮเดรต ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	2.0 กรัม
เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร	

ค. สารละลายส่วนที่ 3

โซเดียมเมตาซิลิเกต 9-ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)	16.50 กรัม
เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร	

วิธีเตรียมอาหาร

นำสารละลายส่วนที่ 1 และส่วนที่ 3 มาอย่างละ 2 มิลลิลิตร และสารละลายส่วนที่ 2 มา 1 มิลลิลิตร เติมน้ำลงในน้ำทะเลที่กรองแล้ว 1 ลิตร

3. สูตรอาหารของคอนเวย์ หรือวอลเน (Conway Medium or Walne Medium)

สูตรอาหารนี้เหมาะสำหรับเลี้ยงไดอะตอม (สเกลโลนีมา, คีโตเซอรอส) หรือสาหร่ายทะเลชนิดอื่นได้ดี เช่น เตตราเซลมิส แต่ถ้าเลี้ยงสาหร่ายชนิดอื่นไม่จำเป็นต้องใช้สารละลายส่วนที่ 4 สารละลาย 4 ส่วน ได้แก่

ก. สารละลายส่วนที่ 1

โซเดียมไนเตรด (NaNO_3)	100.0 กรัม
โซเดียมอีดีทีเอ (Na_2EDTA)	45.0 กรัม
กรดบอริก (H_3BO_3)	33.6 กรัม
โมโนโซเดียมไดไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	20.0 กรัม
เฟอร์ริกคลอไรด์ 6-ไฮเดรต ($\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	1.3 กรัม
แมงกานีสคลอไรด์ 4-ไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	0.36 กรัม
เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร	

ข. สารละลายส่วนที่ 2

ไวตามินบี 1	1 มิลลิกรัม
ไวตามินบี 12 (Cyanocobalamine)	200 มิลลิกรัม
เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร	

ค. สารละลายส่วนที่ 3

ซิงค์คลอไรด์ (ZnCl_2)	2.1 กรัม
โคบอลต์คลอไรด์ 6-ไฮเดรต ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	2.0 กรัม
แอมโมเนียมโมลิบเดต 4-ไฮเดรต [$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$]	0.9 กรัม

คอปเปอร์ซัลเฟต 5-ไฮเดรต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

2.0 กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร

ในกรณีที่สารละลายที่เตรียมได้มีตะกอนให้เติมกรดเกลือ (HCl) ลงไปเล็กน้อย หรือจนกว่าตะกอนจะละลายหมด

ง. สารละลายส่วนที่ 4

โซเดียมเมตาซิลิเกต 9-ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)

15 กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

วิธีเตรียมอาหาร

นำสารละลายที่ 1,2,3 และ 4 มา 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นในน้ำทะเลที่ใช้เลี้ยงไดอะตอมปริมาณ

1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ให้อยู่ในช่วง 6.5 - 6.8 โดยใช้กรด (HCl) 10 เปอร์เซ็นต์

4. สูตรอาหารของโปรวาโซลี (Provasoli Enriched Seawater Medium or PES Medium)

จัดว่าเป็นสูตรอาหารที่ดีมากสูตรหนึ่งสำหรับเลี้ยงสาหร่ายทะเลเกือบทุกชนิด และเหมาะสมสำหรับเลี้ยงในระยะยาว เพื่อศึกษารูปร่าง มีส่วนประกอบเหมือนสูตรที่ 4 แต่ปริมาณของส่วนประกอบ และรายละเอียดในการเตรียมแตกต่างกันเล็กน้อยดังนี้

ส่วนประกอบของอาหารเสริม

โซเดียมไนเตรด (NaNO_3)

350.0 มิลลิกรัม

โซเดียมกลีเซอโรฟอสเฟต 5-ไฮเดรต ($\text{C}_3\text{H}_7\text{Na}_2\text{O}_6\text{P} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

50.0 มิลลิกรัม

* ธาตุเหล็ก (อยู่ในรูปของ อีดีทีเอ 1:1 molar)

2.5 มิลลิกรัม

** แร่ธาตุ P

25.0 มิลลิกรัม

วิตามินบี 12

10.0 ไมโครกรัม

ไทอามีน (Thiamine)

0.5 มิลลิกรัม

ไบโอติน (Biotin)

5.0 ไมโครกรัม

ทริสบัฟเฟอร์ (Tris Buffer)

500.0 มิลลิกรัม

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วปรับค่า pH ให้เท่ากับ 7.8

วิธีเตรียมอาหาร

นำอาหารเสริมที่เตรียมตามวิธีข้างต้นปริมาณ 20 มิลลิลิตรเติมน้ำทะเลที่กรองแล้ว ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ถ้าเลี้ยงสาหร่ายแบบปลอดเชื้อต้องใส่สารละลายอาหารเสริมในหลอดแก้วแล้วนำไปนิ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน แล้วจึงนำไปผสมกับน้ำทะเลที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้วเช่นกัน

วิธีเตรียมธาตุเหล็ก (ในรูปของ EDTA 1:1 molar)

ละลายแอมโมเนียมเฟอรัสซัลเฟต 6-ไฮเดรต $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ หนัก 351 มิลลิกรัม อีดีทีเอ (Na EDTA) ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตรเวลานำไปใช้ให้คิดเทียบว่าสารละลายนี้ 1 มิลลิลิตรมี น้ำหนักเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมเหล็ก (mgFe)

** วิธีเตรียมแร่ธาตุ PII มีส่วนประกอบดังนี้

กรดบอริก (H ₃ BO ₃)	114.0 มิลลิกรัม
เฟอร์ริกคลอไรด์ 6-ไฮเดรต (FeCl ₃ ·6H ₂ O)	4.9 มิลลิกรัม
แมงกานีสซัลเฟต 4-ไฮเดรต (MnSO ₄ ·4H ₂ O)	16.4 มิลลิกรัม
ซิงค์ซัลเฟต 7-ไฮเดรต (ZnSO ₄ ·7H ₂ O)	2.2 มิลลิกรัม
โคบอลท์ซัลเฟต 7-ไฮเดรต (CoSO ₄ ·7H ₂ O)	0.48 มิลลิกรัม
โซเดียม อีดีทีเอ (Na EDTA)	100.0 มิลลิกรัม
ละลายส่วนผสมทั้งหมดลงในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร	

5. สูตรอาหาร เอ เอส พี 6 ของโปรวาโซลี สูตรปรับปรุง (Provasoli ASP 6, Modified)

เป็นสูตรอาหารชนิดที่เรียกว่า synthetic medium คือทราบส่วนประกอบทุกอย่างทั้งปริมาณและคุณภาพ จึงสะดวกแก่การใช้ นิยมใช้เลี้ยงสาหร่ายทะเลบางชนิด เหมาะสำหรับการเลี้ยงเพื่อศึกษาด้านสรีรวิทยา หรือการศึกษาที่ต้องการใช้สาหร่ายในช่วงเวลาอันสั้น แต่สูตรนี้เหมาะสำหรับการเลี้ยงระยะสั้น เพราะเลี้ยงนานๆ รูปร่างสาหร่ายจะเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมส่วนประกอบมีดังนี้

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl 240 กรัม / น้ำ 1 ลิตร)	100 มิลลิลิตร
แมกนีเซียมซัลเฟต 7-ไฮเดรต (MgSO ₄ ·7H ₂ O 80 กรัม / น้ำ 200 มิลลิลิตร)	20 มิลลิลิตร
โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl 7 กรัม / น้ำ 100 มิลลิลิตร)	10 มิลลิลิตร
แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl ₂ 1.5 กรัม / น้ำ 100 มิลลิลิตร)	10 มิลลิลิตร
โซเดียมไนเตรต (NaNO ₃ 3 กรัม / น้ำ 100 มิลลิลิตร)	10 มิลลิลิตร
โซเดียมกลีเซอโรฟอสเฟต 5-ไฮเดรต (C ₇ H ₂ Na ₂ O ₆ P·5H ₂ O 1 กรัม/น้ำ 100 มิลลิลิตร)	10 มิลลิลิตร
ทริส บัฟเฟอร์ (Tris Buffer 10 กรัม/น้ำ 100 มิลลิลิตร)	5 มิลลิลิตร
ไบโอติน (Biotin 10 ไมโครกรัม/น้ำ 100 มิลลิลิตร)	3.5 มิลลิลิตร
โซเดียมโมลิบเดต 2-ไฮเดรต (Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O 0.05 กรัม/น้ำ 100 มิลลิลิตร)	5 มิลลิลิตร
ไทอามีน (Thiamine 0.0005 กรัม/น้ำ 100 มิลลิลิตร)	1 มิลลิลิตร
* แร่ธาตุ P II (P II metals)	5 มิลลิลิตร
นำส่วนผสมทั้งหมดเติมลงในน้ำกลั่น ปริมาตร	814.5 มิลลิลิตร
* วิธีเตรียมแร่ธาตุ P – II ส่วนประกอบดังนี้	
กรดบอริก (H ₃ BO ₃)	114.0 มิลลิกรัม
เฟอร์ริกคลอไรด์ 6-ไฮเดรต (FeCl ₃ ·6H ₂ O)	4.9 มิลลิกรัม
แมงกานีสซัลเฟต 4-ไฮเดรต (MnSO ₄ ·4H ₂ O)	16.4 มิลลิกรัม
ซิงค์ซัลเฟต 7-ไฮเดรต (ZnSO ₄ ·7H ₂ O)	2.2 มิลลิกรัม
โคบอลท์ซัลเฟต 7-ไฮเดรต (CoSO ₄ ·7H ₂ O)	0.48 มิลลิกรัม
โซเดียมอีดีทีเอ (Na ₂ EDTA)	100.0 มิลลิกรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น

100.0 มิลลิลิตร

6. สูตรอาหารของโปรวาโซลิ สูตรปรับปรุง (Provasoli Modified Medium)

เป็นสูตรอาหารที่ดีอีกสูตรหนึ่ง ใช้ได้ดีในการเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวเกือบทุกชนิด และสามารถให้ได้ผลดีทั้งในและนอกห้องปฏิบัติการ ดังนั้นจึงเหมาะที่จะใช้เก็บหัวเชื้อ (stock) และการขยายพันธุ์ไดอะตอม เช่น คีโตเซอรอส และสเกลโลนีมา ประกอบด้วยสารละลาย 3 ส่วนดังนี้

ก. สารละลาย ส่วนที่ 1

โซเดียมไนเตรด (NaNO_3)	100	กรัม
โซเดียมกลีเซอโรฟอสเฟต 5-ไฮเดรต ($\text{C}_3\text{H}_7\text{Na}_2\text{O}_6\text{P} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	17.0	กรัม
แอมโมเนียมเฟอรัสซัลเฟต 6-ไฮเดรต [$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$]	7.0	กรัม
โซเดียมอีดีทีเอ (Na_2EDTA)	4.0	กรัม
วิตามินบี 1 (ไฮอามีน ไฮโดรคลอไรด์ แอซิด)	0.1	กรัม
วิตามินบี 12	1,000	ไมโครกรัม
ไบโอติน	0.002	มิลลิลิตร
กรดบอริก (H_3BO_3)	2	มิลลิลิตร

หมายเหตุ : ควรผสมโซเดียมอีดีทีเอกับแอมโมเนียมเฟอรัสซัลเฟตในน้ำเพียงเล็กน้อยก่อน เมื่อส่วนผสมละลายเข้ากันดีแล้วจึงนำไปเติมลงในสารละลายของส่วนผสมอีก 6 ชนิด เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดตะกอนขึ้น

ข. สารละลาย ส่วนที่ 2

ละลายแมงกานีสคลอไรด์ 4-ไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 40.0 กรัม ในน้ำกลั่น	1	ลิตร
ละลายโคบอลต์คลอไรด์ 6-ไฮเดรต ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 1.0 กรัม ในน้ำกลั่น	1	ลิตร
ละลายซิงค์คลอไรด์ (ZnCl_2) 4.0 กรัม ในน้ำกลั่น	1	ลิตร
ละลายเฟอรัสคลอไรด์ (FeCl_2) 10.0 กรัม ในน้ำกลั่น	1	ลิตร
เวลาจะใช้ให้นำสารละลายมาใช้ อย่างละ	10	มิลลิลิตร

นำสารละลายส่วนที่ 1 และส่วนที่ 2 ผสมกัน และเติมน้ำกลั่น (หรือน้ำต้มจนเดือดซึ่งกรองเอาตะกอนออกแล้วและควรใช้น้ำต้มที่เย็นแล้วเท่านั้น) จนปริมาตรครบ 1 ลิตร ใส่ขวดสีชาและเก็บไว้ในตู้เย็น เรียกว่า สารละลายสต็อก I

ค. สารละลาย ส่วนที่ 3

โซเดียมเมตาซิลิเกต 9-ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)	22.5	กรัม
---	------	------

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร ใส่ขวดสีชาเก็บไว้ในตู้เย็นถ้าไม่มีขวดสีชาให้ใช้ขวดแก้วธรรมดา หุ้มด้วยกระดาษอะลูมิเนียมเพื่อป้องกันไม่ให้ถูกแสง เรียกว่า ละลายสต็อก II เวลาใช้เติมน้ำทะเลควรเติมทีละน้อย ถ้าเติมครั้งเดียวหมดจะเกิดตะกอนอาจทำให้ไดอะตอมตายได้

วิธีเตรียมอาหาร

ถ้าต้องการเลี้ยงหัวเชื้อไดอะตอม ให้นำสารละลายสต็อก I ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายสต็อก II ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมน้ำทะเลที่เตรียมไว้ปริมาตร 1 ลิตร ถ้าต้องการขยายพันธุ์ไดอะตอมให้ได้ปริมาตร 1 ตัน ให้ใช้สารละลายสต็อก I และ II ปริมาตรอย่างละ 1 ลิตร

7. สูตรอาหารของซาโตะและเซริกาวา (Sato and Serikawa Medium)

เป็นสูตรอาหารที่นิยมใช้ขยายพันธุ์ไดอะตอมปริมาณเป็นต้น ๆ มีส่วนประกอบดังนี้คือ

โปแตสเซียมไนเตรต (KNO_3)	100.0	กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (Na_2HPO_4)	10.0	กรัม
โซเดียมเมตาซิลิเกต 9-ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)	5.0	กรัม
เฟอร์ริกคลอไรด์ (FeCl_3)	2.5	กรัม
น้ำทะเล 1 ตัน		

วิธีเตรียมอาหาร

ในการเตรียมอาหารเพื่อขยายพันธุ์ไดอะตอมปริมาณมาก ๆ นั้น ไม่จำเป็นต้องใส่สารเฟอร์ริกคลอไรด์เนื่องจากน้ำของ ประเทศไทยมีสารประกอบของเหล็กมากเพียงพอแล้ว เวลาเตรียมอาหารให้ชั่งเกลือโปแตสเซียมไนเตรต และ ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟตละลายในน้ำจืดเล็กน้อย เวลาจะใช้ให้สาดสารลงในถังขยายพันธุ์ ส่วนเกลือโซเดียมเมตาซิลิเกตนั้นควรละลายน้ำแยกต่างหาก ค่อย ๆ เทลงในถังบริเวณที่มีฟองอากาศปุดขึ้นมาเพื่อช่วยให้โซเดียมเมตาซิลิเกต กระจายไปทั่วถังขยายพันธุ์ ในขณะที่เทเกลือลงไปจะเกิดตะกอนขุ่นขาว

8. สูตรอาหารของมิเกล (Miquel Medium)

ใช้เลี้ยงไดอะตอม (สเกลโตนีมา, คีโตเซอรอส) มีส่วนประกอบดังนี้

ก. สารละลาย – เอ

แมกนีเซียมซัลเฟต (MgSO_4)	10.0	กรัม
เกลือแกง (NaCl)	10.0	กรัม
โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4)	5.0	กรัม
แอมโมเนียมไนเตรต ($(\text{NH}_4)_2\text{NO}_3$)	1.0	กรัม
โปแตสเซียมไนเตรต (KNO_3)	2.0	กรัม
โซเดียมไนเตรต (NaNO_3)	2.0	กรัม
โปแตสเซียมโบรไมด์ (KBr)	0.2	กรัม
โปแตสเซียมไอโอไดด์ (KI)	0.1	กรัม

น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

ข. สารละลาย – บี

โซเดียมฟอสเฟต (Na_2PO_4)	4	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2)	4	กรัม
กรดเกลือ (HCl)	2	มิลลิลิตร
เฟอร์ริกคลอไรด์ (FeCl_3)	2	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร		

การเตรียมสารละลาย – บี ควรทำตามขั้นตอนดังนี้ ละลายโซเดียมฟอสเฟตใน น้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร เติมกรดเกลือ 2 มิลลิลิตร พอละลายเข้ากันดีแล้วให้เติมเฟอร์ริกคลอไรด์ พักไว้ก่อน ละลายแคลเซียมคลอไรด์ในน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร แล้วจึงนำสารละลายเกลือแคลเซียมเติมลงในสารละลายที่เตรียมไว้ก่อนหน้านี้ เขย่าให้เข้ากันดีมีฉะนั้นจะตกตะกอน สารละลายที่เตรียมได้นี้ เรียกว่า สารละลายฟอสโฟ – เพอโร – แคลซีโอ

วิธีเตรียมอาหาร

เมื่อได้สารละลาย – เอ และสารละลาย – บี แล้ว ให้เติมสารละลาย – เอ 40 หยด และสารละลาย – บี 10 – 20 หยดลงในน้ำทะเลที่เตรียมไว้แล้ว นำไปต้มฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 70°C นาน 20 นาที

9. สูตรอาหารของมิเกล – อัลเลน และเนลสัน (Miquel – Allen – Nelson Medium)

เป็นสูตรที่อัลเลนและเนลสันได้ดัดแปลงจากสูตรอาหารของมิเกลโดยเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบบางอย่างของสารละลาย – เอ ดังนี้

ก. สารละลาย – เอ

โปแตสเซียมไนเตรต (KNO_3)	20.2	กรัม
น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร		

ข. สารละลาย – บี

ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต 12 - ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	4	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	4	กรัม
สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (FeCl_3)	2	มิลลิลิตร
กรดเกลือเข้มข้น (HCl comc.)	2	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร		

วิธีเตรียมอาหาร

เติมสารละลาย – เอ 2 มิลลิลิตร และสารละลาย – บี 1 มิลลิลิตร ในน้ำทะเลที่เตรียมไว้ 1,000 มิลลิลิตร ต้มแล้วกรองเอาแต่น้ำใส ๆ จากสารละลายดิน 1 มิลลิลิตร การเลี้ยงจะได้ผลดีขึ้น

10. สูตรอาหารเลี้ยงเตตราเซลมิส (Tetraselmis Medium)

นอกจากใช้เลี้ยงสาหร่ายสีเขียวชนิดมีหนวดแล้วยังใช้เลี้ยงสาหร่ายสีเขียวชนิดอื่นได้ เช่น คลอเรลล่า เป็นต้น มีส่วนประกอบดังนี้

แอมโมเนียมซัลเฟต $[(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4]$	100	กรัม
ยูเรีย $[(\text{NH}_4)_2 \text{CO}]$ หรือ $\text{CO}[(\text{NH}_2)_2]$	5	กรัม
แคลเซียมซูเปอร์ฟอสเฟต $[\text{Ca} (\text{H}_2\text{PO}_4)_2]$	15	กรัม
น้ำทะเล 1 ตัน		

สูตรอาหารนี้นอกจากใช้ขยายพันธุ์เตตราเซลมิสแล้วยังสามารถนำไปใช้เลี้ยงสาหร่ายสีเขียวชนิดอื่น ๆ ได้ เช่น คลอเรลล่า เป็นต้น

11. สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมเหลือง (Chrysophytes)

ชนิดไอโซโครซิส (*Isochrysis* sp.) และโมนโครซิส ลูเธไร (*Monochrysis lutheri* หรือ *Pavlova lutheri*) สูตรนี้ก็คือสูตรอาหารของโปรวาไซลี เพียงแต่เปลี่ยนแปลงน้ำหนักของส่วนประกอบไปจากเดิม มีวิธีการเตรียมอาหารดังนี้

ก. สารละลาย ส่วนที่ 1

โซเดียมไนเตรด (NaNO_3)	100	กรัม
โซเดียมกลีเซอโรฟอสเฟต 6-ไฮเดรต ($\text{C}_3\text{H}_7\text{Na}_2\text{O}_6\text{P} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	30	กรัม
ไวดามีนบี 12	6	มิลลิกรัม
ไวดามีนบี 1	300	มิลลิกรัม
ไบโอติน	3	มิลลิกรัม
เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร		

ข. สารละลาย ส่วนที่ 2

แอมโมเนียมเฟอรัสซัลเฟต 6-ไฮเดรต [$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$]	10.5	กรัม
โซเดียมอีดีทีเอ (Na_2EDTA)	9.9	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร		

ค. สารละลาย ส่วนที่ 3

โซเดียมอีดีทีเอ (Na_2EDTA)	15	มิลลิกรัม
กรดบอริก (H_3BO_3)	3	กรัม
แมงกานีสคลอไรด์ 4-ไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	600	มิลลิกรัม
เฟอร์ริกคลอไรด์ 6-ไฮเดรต ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	150	มิลลิกรัม
ซิงค์คลอไรด์ (ZnCl_2)	75	มิลลิกรัม
โคบอลท์คลอไรด์ 6-ไฮเดรต ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	15	มิลลิกรัม
เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร		

วิธีเตรียมอาหาร

นำสารละลายส่วนที่ 1-3 ผสมกันโดยมีอัตราส่วน 4:1:1 โดยปริมาตร ใส่ส่วนผสมไว้ในขวดสีชา และเก็บไว้ในตู้เย็น เมื่อต้องการใช้ขยายพันธุ์แพลงก์ตอนชนิดที่ต้องการ ใช้อาหารปริมาตร 2 มิลลิลิตรต่อน้ำทะเล 1 ลิตร

12. สูตรอาหารเลี้ยงดูนาเลี่ยนล่า (*Dunaliella parva* Medium)

เป็นสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายสีเขียวมีหนวด สามารถอยู่ในน้ำเค็มจัดได้ดี มีส่วนประกอบดังนี้

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	1.5	โมลล์ (M)
แมกนีเซียมซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	24.0	มิลลิโมลล์ (mM)
แมกนีเซียมคาร์บอเนต 6-ไฮเดรต ($\text{MgCO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	20.0	มิลลิโมลล์ (mM)
แคลเซียมคลอไรด์ 2-ไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	10.0	มิลลิโมลล์ (mM)
โซเดียมไนเตรด (NaNO_3)	4.0	มิลลิโมลล์ (mM)

โปแตสเซียมไนเตรต (KNO_3)	1.0	มิลลิโมลล์ (mM)
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนออร์โธฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.1	มิลลิโมลล์ (mM)
เฟอริกคลอไรด์ 6-ไฮเดรต ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	1.5	ไมโครโมลล์ (mM)
โซเดียมอีดีทีเอ (Na_2EDTA)	30.0	ไมโครโมลล์ (mM)
กรดบอริก (H_3BO_3)	7.0	ไมโครโมลล์ (mM)
แคลเซียมคลอไรด์ 2-ไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.2	ไมโครโมลล์ (mM)
แมงกานีสคลอไรด์ 4-ไฮเดรต ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	0.8	ไมโครโมลล์ (mM)
ซิงค์คลอไรด์ (ZnCl_2)	0.02	ไมโครโมลล์ (mM)
Tris/HCl	20.0	ไมโครโมลล์ (mM)

ผสมส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำทะเล 1 ลิตร แล้วปรับความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ให้มีค่า 7.4

13. สูตรอาหารสารละลายดินด้วยน้ำทะเล (Soil Seawater Medium)

แฟล่งก์ตอนพืชที่อาศัยอยู่ในน้ำกร่อยหรือน้ำเค็มโดยเฉพาะพวกมีหนวด เจริญเติบโตได้ดีในสูตรอาหารชนิดนี้ มีวิธีเตรียมดังนี้

- ก. นำดินปลูกต้นไม้จากธรรมชาติที่มีความชื้นพอประมาณ ปราศจากปุ๋ยวิทยาศาสตร์ ยาฆ่าแมลง และยาฆ่าวัชพืช ใส่ลงในขวดสูงประมาณ 1/2 นิ้ว (ไม่ควรใช้ดินผสมสำหรับปลูกต้นไม้ที่มีใบไม้หรือหญ้าแห้ง)
- ข. เติมน้ำทะเลหรือน้ำทะเลที่ทำให้เจือจาง 1/4 หรือ 1/2 เท่า ให้สูงประมาณ 3/4 ขวด ปิดจุก
- ค. ต้มให้เดือดประมาณ 2 ชั่วโมง ตีต่อกัน 2 วัน (ไม่ควรใช้หม้อหุงข้าว)
- ง. ต้มทิ้งให้ตกตะกอน รินแต่น้ำใสๆ ตอนบนมาใช้

14. สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงไดโนแฟลเจลเลต (Dinoflagellate Media)

สูตรที่ใช้ได้ผลดีมีอยู่ 3 สูตร คือ

14.1 สูตรอาหารสูตรปรับปรุงของสตอช (Modified von Stosch Medium)

14.2 สูตรอาหารสูตรปรับปรุงของเอิร์ดชไรเบอร์ (Erdschreiber Modified Medium)

14.3 สูตรอาหาร T_1 (Marine Plankton Culture Lab คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

14.1 สูตรอาหารสูตรปรับปรุงของสตอช (Modified von Stosch Medium) มีส่วนประกอบดังนี้

โซเดียมไนเตรต (NaNO_3)	14.0	มิลลิกรัม
โมโนโซเดียมไฮโดรเจนออร์โธฟอสเฟตไฮเดรต ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	1.6	มิลลิกรัม
สารประกอบของเหล็ก (Ferric sequestrene)	40.0	มิลลิกรัม
โซเดียมอีดีทีเอ (Na_2EDTA)	8.0	มิลลิกรัม
อะมิโนมีเทน (Tris-hydroxymethyl amino methane)	100.0	มิลลิกรัม
เฟอริกคลอไรด์ 6-ไฮเดรต ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	300.0	ไมโครกรัม
สารคีเลเตอร์ (Fe as EDTA)	130.0	ไมโครกรัม
น้ำสกัดจากดิน (Soil extract)	50.0	มิลลิลิตร
สารละลายปฏิชีวนะ (Antibiotic solution)	1.0	มิลลิลิตร
น้ำทะเลธรรมชาติกรองแล้ว	1,000	มิลลิลิตร

ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 8.0 ใช้อุณหภูมิที่เลี้ยง $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ความเข้มแสง 3,000-5,000 ลักซ์ ใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์ช่วงแสงสว่าง (สว่าง : มีด) เท่ากับ 18:6

14.2 สูตรอาหารสูตรปรับปรุงของเอิร์ดชไรเบอร์ (Erdschreiber Modified Medium)

มีส่วนประกอบคล้ายสูตร 1 (สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชน้ำเค็ม) หน้า 111 แต่ใช้น้ำหนักของส่วนผสมต่างกัันดังนี้

โซเดียมไนเตรต (NaNO_3)	100	มิลลิกรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟตไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	20	มิลลิกรัม
น้ำสกัดจากดิน (Soil extract)	50	มิลลิลิตร
น้ำทะเลธรรมชาติกรองแล้ว	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียมอาหารเหมือนกับสูตร 1 อุณหภูมิที่เลี้ยง $24 - 25^{\circ}\text{C}$ ความเข้มแสง 5,400 ลักซ์ ใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์ช่วงสว่าง (สว่าง : มีด) เท่ากับ 12 : 12

14.3 สูตรอาหาร T_1 (T_1 Medium)

เติม 1 มล. ของ stock solutions ลงในน้ำทะเล 1 ลิตร

Stock solution	ความเข้มข้น
1. Tris HCl buffer (pH 8.0)*	5 M
2. NaNO_3	1 M
3. NaH_2PO_4	100 mM
4. Fe EDTA	5 mM
5. Vitamin Mix I	
6. Trace metal solution**	

* การเตรียม ใช้ 2 มล. ของ 2.5 M Tris-HCl ในน้ำทะเล 1 ลิตร

** Trace metal solution ประกอบด้วย

1. ZnSO_4	1 mM
2. MnCl_2	10 mM
3. Na_2MoO_4	0.5 mM
4. CoCl_2	0.2 mM
5. CuSO_4	0.01 mM
6. EDTA (as Na_2 salt)	24 mM

Vitamin Mix I (pH 4.0)

1. Thiamine HCl	200 mg/l
2. Biotin	1 mg/l
3. Cyanocobalamine (B 12)	1 mg/l

7.2.2 อาหารแข็ง (Solid Media)

สูตรอาหารแข็งสำหรับการเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืชน้ำเค็ม มีดังนี้

1. ไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria Agar) มีส่วนประกอบดังนี้

โปแตสเซียมไนเตรต (KNO_3)	5.0	กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.1	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต 7-ไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.05	กรัม
วุ้นผง	1	มิลลิกรัม
ละลายในน้ำทะเลจนครบ 1 ลิตร	15	กรัม

2. พอร์ไฟริเดียม (Porphyridium Agar) อัตราส่วนในสารละลาย 1 ลิตร

น้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร		
น้ำทะเลที่กรองและอบฆ่าเชื้อแล้ว	500	มิลลิลิตร
น้ำใส่ๆ จากสารละลายดิน	100	มิลลิลิตร
ผงยีสต์	1.0	กรัม
ทริบโทน	1.0	กรัม
วุ้นผง	15.0	กรัม

3. อาหารวุ้นเลี้ยงไดอะตอม (Diatom Seawater Agar)

อาหารเหลวสูตรของโบลด์	500	มิลลิลิตร
น้ำทะเลที่กรองและอบฆ่าเชื้อแล้ว	500	มิลลิลิตร
น้ำใส่ๆ จากสารละลายดิน	50	มิลลิลิตร
วุ้นผง	15	กรัม

บทที่ 8

หลักในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดใหญ่

8.1 แนวทางในการนำทรัพยากรสาหร่ายมาใช้ประโยชน์

การนำเอาทรัพยากรสาหร่ายที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมาใช้ประโยชน์ อาจทำได้ 3 วิธีด้วยกัน คือ

1. การแสวงหาแหล่งใหม่และสาหร่ายชนิดใหม่ (Discovery and development of new resources)
2. การเพิ่มปริมาณสาหร่ายที่มีอยู่แล้ว (Management of existing resources)
3. การเพาะเลี้ยง (Aquaculture)

วิธีที่ 1 นั้นมีความจำเป็นน้อยที่สุดเพราะโอกาสที่จะพบแหล่งสาหร่ายใหม่ ๆ เป็นไปได้น้อยมากและต้องมีในปริมาณที่มากพอและต้องสามารถเก็บเกี่ยวได้ง่ายด้วย ส่วนวิธีที่ 2 โดยการจัดหาวัสดุสำหรับให้สปอร์ของสาหร่ายมาเกาะและเจริญเติบโตหรือการจัดการด้านเทคนิคการเก็บเกี่ยว ตัวอย่าง เช่น *Gracilaria* ในฟิลิปปินส์ *Macrocystis* ในสหรัฐอเมริกา *Ascophyllum* ในนอร์เวย์ แต่วิธีที่นิยมมากที่สุด คือการเพาะเลี้ยง

8.2 คำศัพท์ที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

คำศัพท์เกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงมีใช้กันอยู่ 2 คำ คือ Aquaculture และ Mariculture ซึ่งมีความหมายคล้ายกันคือหมายถึง การเลี้ยงสิ่งมีชีวิตภายใต้สภาวะควบคุมเพื่อประโยชน์ด้านเศรษฐกิจ แต่คำว่า Aquaculture มีความหมายกว้างกว่า คือ รวมการเพาะเลี้ยงทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม ส่วน Mariculture หมายถึง การเพาะเลี้ยงในน้ำกร่อยและน้ำเค็มเท่านั้น

ข้อดีของการเพาะเลี้ยงคือได้ผลผลิตมากและมีปริมาณที่แน่นอน มีคุณภาพสูง สามารถปรับปรุงคัดพันธุ์และสะดวกในการเก็บเกี่ยวมากกว่าผลผลิตตามธรรมชาติ

เทคโนโลยีด้านการเพาะเลี้ยงสาหร่ายมีการพัฒนาน้อยและช้ากว่าการเพาะเลี้ยงพืชบกชั้นสูงเพราะมีความสำคัญน้อยกว่าคือไม่ได้ใช้เป็นอาหารหลักและวงชีวิตและการสืบพันธุ์ซับซ้อน ยังไม่มีการศึกษาและการควบคุมสภาพแวดล้อมทำได้ยากกว่าพืชบก

8.3 รูปแบบของการเพาะเลี้ยง

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย อาจแบ่งได้ 3 แบบ คือ

1. การเพาะเลี้ยงระบบปิด (Closed System)
2. การเพาะเลี้ยงระบบกึ่งปิด (Semi-closed System)
3. การเพาะเลี้ยงระบบเปิด (Open System)

1.การเพาะเลี้ยงระบบปิด (Closed System)

หมายถึงการเพาะเลี้ยงที่สามารถควบคุมตัวแปรได้ทั้งหมด ตัวอย่างเช่น การเลี้ยงสาหร่ายในหลอดทดลอง ในขวด ในถุงพลาสติก ในท่อ ในถังหรือในบ่อซีเมนต์ เช่น การเลี้ยงสาหร่ายพวกแพลงก์ตอนเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน การเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina*) ที่สมุทรปราการและที่เชียงใหม่ การเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus* ของสถาบันผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

2. การเพาะเลี้ยงระบบกึ่งปิด (Semi-closed System)

หมายถึงการเพาะเลี้ยงที่สามารถควบคุมตัวแปรบางประการได้ เช่นการควบคุมชนิดและปริมาณของสารอาหาร การควบคุม Epiphytes ได้แก่ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อดิน เป็นการเพาะเลี้ยงที่มีค่าใช้จ่ายสูง เช่น ค่าที่ดิน ค่าแรงงานและค่าวัสดุ ตัวอย่างเช่น การเลี้ยงสาหร่าย *Chondrus* ในแคนาดา และในสหรัฐอเมริกา และการเลี้ยงสาหร่ายผมนาง *Gracillaria* ที่ปัตตานี

3. การเพาะเลี้ยงระบบเปิด (Open System)

เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในสภาพธรรมชาติ เช่น ตามชายฝั่งหรือในทะเล ตัวอย่างการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบเปิดที่ประสบความสำเร็จ ได้แก่ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีแดงสกุลจีน่า (*Porphyta*) เพื่อใช้เป็นอาหารในญี่ปุ่น การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสกุลยูคิมา (*Eucheuma*) ในฟิลิปปินส์ และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีน้ำตาลเพื่อใช้เป็นอาหารในประเทศจีน เช่น *Laminaria* และ *Undaria* และการเลี้ยง *Macrocystis* ในสหรัฐอเมริกา ส่วนใหญ่เป็นการเพาะเลี้ยงบนเส้นเชือกหรือตาข่าย (Monoline or net culture)

8.4 เทคโนโลยีชีวภาพด้านสาหร่าย (Algae biotechnology / Phycotechnology)

จากการที่พบว่าสาหร่ายเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากทั้งในปัจจุบันและในอนาคต จึงมีการพัฒนาเทคโนโลยีที่เกี่ยวกับสาหร่ายโดยมีวัตถุประสงค์ที่สำคัญ คือ

- 1.เพื่อให้มีความเข้าใจในกลไกทางสรีรวิทยา ชีวเคมี และเซลล์ของสาหร่ายให้มากขึ้น
- 2.เพื่อให้ได้ชนิดของสาหร่ายที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง เช่น เติบโตเร็ว ปรับตัวได้ดี
- 3.เพื่อปรับปรุงสายพันธุ์สาหร่ายให้มีลักษณะตามที่ต้องการ เช่น ผลิตสารที่ต้องการได้มากหรือหลายชนิด

เทคโนโลยีทางชีวภาพที่ใช้ในการปรับปรุงสายพันธุ์สาหร่ายส่วนใหญ่ใช้ความรู้และเทคนิคด้านพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลและเทคนิคทางชีวภาพ เทคนิคที่นิยมใช้กันแพร่หลาย คือ เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เซลล์ หรือ แคลลัส (Tissue, Cell, Cellus culture) และเทคนิค Protoplasts fusion เพื่อสร้าง Somaclonal variation หรือลูกผสมที่มีลักษณะตามต้องการและการคัดพันธุ์ (Selective breeding)

แม้ว่าในปัจจุบันจะมีข้อมูลเกี่ยวกับ Gene และ Genomes ของสาหร่ายมากขึ้นแต่การนำเอาความรู้ไปใช้ประโยชน์สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ยังมีน้อย การใช้ความรู้ด้านพันธุศาสตร์ในการปรับปรุงพันธุ์สาหร่ายในปัจจุบันยังจำกัดอยู่เฉพาะสาหร่ายที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น *Porphyra*, *Gracillaria*, *Gelidium*, *Chondrus*, และ *Eucheuma*

ในอนาคตอันใกล้นี้นักเทคโนโลยีด้านสาหร่ายคาดว่าจะสามารถทำสิ่งต่อไปนี้ได้

1. ใช้เซลล์สาหร่ายเป็น Host รับยีนจากภายนอกเพื่อสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่ต้องการได้
2. ถ่ายยีนของสาหร่ายที่เป็นรหัสสำหรับการสังเคราะห์โพลีแซ็กคาไรด์หรือสารอื่นที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจแก่แบคทีเรียหรือจุลินทรีย์อื่นได้
3. ปรับปรุงยีนของสาหร่ายเพื่อให้มีศักยภาพในการสังเคราะห์สารที่ต้องการมากขึ้นได้ เช่น เพิ่มปริมาณเอนไซม์

ข้อจำกัดและอุปสรรคของเทคโนโลยีชีวภาพด้านสาหร่าย ได้แก่

1. ขาดความรู้เกี่ยวกับปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเติบโตและการ Differentiation
2. ขาดความรู้เกี่ยวกับโครงสร้างและส่วนประกอบของ Cell wall
3. ขาดความรู้เกี่ยวกับเอนไซม์สำหรับย่อยสลายผนังเซลล์ (จาก รา แบคทีเรีย หอย ปลา ฯลฯ)
4. เทคนิคด้าน Axenic culture
5. เทคนิคด้านการเพาะเลี้ยง
6. เทคนิคด้าน Gene transfer system
7. เทคนิคด้าน DNA extraction method

บทที่ 9

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดใหญ่

9.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสกุลกราซิลารีย (Gracilaria)

สาหร่ายสาหร่ายสกุลกราซิลารียมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ คือ ใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการสกัดวุ้นสาหร่ายสกุลนี้สามารถเพาะเลี้ยงได้ทั้ง 3 ระบบ ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์

1.การเลี้ยงในระบบปิด เป็นการเลี้ยงเพื่อตรวจสอบวงจรชีวิตหรือทดสอบความแปรผันทางพันธุกรรม เช่น การเลี้ยงในหลอดแก้ว ในขวด ในถุงพลาสติก หรือการเลี้ยงแบบสเปรย์ (Spray culture)

2.การเลี้ยงในระบบกึ่งปิด เช่น เลี้ยงในบ่อดินหรือบ่อซีเมนต์หรือในร่องน้ำ ตัวอย่างเช่น การเลี้ยงกราซิลารียในบ่อดินในไต้หวันโดยเลี้ยงร่วมกับปลา กุ้ง หรือปู โดยหว่านสาหร่ายลงไปบ่อและใช้ฟางไม้ไผ่กดทับป้องกันการรวมกลุ่มกันเมื่อถูกลมพัด หว่านสาหร่าย 2 กิโลกรัม ต่อพื้นที่ 1 ตารางเมตร มีรายงานว่าได้ผลผลิต 7-12 ตันแห้งต่อ 1 เฮกเตอร์ ในนิวซีแลนด์มีการเลี้ยงกราซิลารียในถังไฟเบอร์กลาสหรือในบ่อซีเมนต์เพื่อใช้เป็นอาหารเลี้ยงลูกหอยเป๋าฮื้อ (Abalone)

3.การเลี้ยงในระบบเปิด เป็นการเพาะเลี้ยงในแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งมีข้อที่ต้องพิจารณา คือ

1.การเลือกสถานที่ (Site selection) ต้องเป็นอ่าวที่คลื่นลมไม่แรง มีน้ำจืดไหลลง (น้ำกร่อย) พื้นอ่าวเป็นโคลนปนทราย

2.การเลือกชนิดของสาหร่าย (Strain selection) เช่น โตเร็ว ปรับตัวได้ดี ให้วุ้นปริมาณมากและมีคุณภาพดี

3.การเลือกวิธีการเพาะเลี้ยง (Culture method)

4.การพิจารณาด้านกฎหมาย ระเบียบที่เกี่ยวข้อง การตลาด การเงิน

ไม่ว่าจะเลือกการเลี้ยงในระบบใด กราซิลารียสามารถเลี้ยงได้ 2 วิธี คือ

1.โดยอาศัยวิธี Vegetative Propagation โดยนำต้นสาหร่ายมาสอดลงในเกลียวเส้นเชือก (Tie-Tie Method or insert line method)

2.โดยอาศัยสปอร์ (Sporulation) โดยทำการเพาะสปอร์ให้งอกบนวัสดุเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการก่อน เช่น เส้นเชือก ตาข่าย แล้วจึงนำไปเลี้ยง (Outplanting) ในทะเลซึ่งอาจใช้วิธี Fixed pole หรือ วิธี Free floating ก็ได้

9.2 การเพาะเลี้ยงจีจ้าย (Porphyra) ในญี่ปุ่น

จีนเป็นชาติแรกที่เลี้ยงจีจ้ายเมื่อ 200 ปีก่อนโดยจัดหาก้อนหินให้เป็นที่เจริญของสปอร์ แต่การเพาะเลี้ยงเพื่ออุตสาหกรรมเริ่มต้นในญี่ปุ่นใน ค.ศ.1650 ในอ่าวโตเกียว โดยใช้กิ่งไม้ปักให้เป็นที่เกาะของสปอร์ ในฤดูใบไม้ร่วงและทำการเก็บเกี่ยวในช่วงเริ่มต้นฤดูหนาว นำมาตากแห้งและอัดเป็นแผ่นจำหน่าย ต่อมามีการ

ใช้เชื้อหรืออวนที่ทำจากเส้นใยธรรมชาติแทนกึ่งไม้ ในปัจจุบันใช้ตาข่ายที่ทำจากโพลีโพรไพลีน คือ Polypropylene ผสมกับ Vinylon หรือ Cremona ตาข่ายสำหรับเพาะเลี้ยงจิ้งฉ่ายนี้มีชื่อเรียกภาษาญี่ปุ่นว่า Hibi มีขนาดมาตรฐาน คือ 18x1.5 เมตร ช่องตากว้าง 30 มิลลิเมตร สถานที่เลี้ยงเป็นอ่าวที่มีน้ำจืดไหลลง พื้นเป็นโคลนปนทราย การขึงตาข่ายอาจใช้เสา (pole method) หรือใช้ทุ่นลอย (floating method) หรือใช้แพ (floating raft)

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงจิ้งฉ่ายเริ่มต้นเมื่อ ค.ศ.1950 เมื่อ Drew ได้พบระยะ Conchocelis phase ของจิ้งฉ่าย และ Kurogi ได้พบวงจรชีวิตที่สมบูรณ์ของจิ้งฉ่ายเมื่อ ค.ศ.1952 ทำให้สามารถเพาะเลี้ยงสปอร์บนตาข่ายและนำไปเลี้ยงในทะเลแทนการดักจับในธรรมชาติและยังสามารถเลือกชนิดที่ต้องการได้

จิ้งฉ่ายที่นิยมเลี้ยงในญี่ปุ่นมี 2 ชนิด คือ *Porphyra tenera* และ *Pyezoensis* ปัจจุบันมีการปรับปรุงพันธุ์และจดลิขสิทธิ์มากกว่า 32 สายพันธุ์ และมีการทดลองนำไปเลี้ยงในประเทศอื่น เช่นในเกาหลี และในรัฐวอชิงตัน สหรัฐอเมริกา

ขั้นตอนการเลี้ยงจิ้งฉ่ายในปัจจุบัน

- 1.ขั้นเพาะเลี้ยง Conchocelis บนเปลือกหอย โดยนำสาหร่ายมาใส่ในถังที่ห้อยเปลือกหอยไว้ปล่อยให้สาหร่ายปล่อย Carpospore ออกมาเกาะและเจริญเติบโตเต็มฝา
- 2.ขั้นกระตุ้นให้ Conchocelis สร้างสปอร์โดยการปรับสภาพแวดล้อม
- 3.ขั้นเพาะสปอร์บนตาข่าย ซึ่งอาจเพาะในร่มหรือกลางแจ้งก็ได้
- 4.ขั้นอนุบาลสาหร่ายบนตาข่าย โดยนำตาข่ายที่เพาะสปอร์แล้วไปเลี้ยงในทะเลจนสาหร่ายมีขนาดยาว 2-3 ซม. จึงเก็บตาข่ายมาตาก ม้วนและแช่แข็งสำหรับใช้เพาะต่อไป (-20 องศาเซลเซียส)
- 5.ขั้นเพาะเลี้ยง โดยปล่อยให้สาหร่ายเจริญจนได้ขนาด คือ ยาว 15-20 ซม. จึงทำการเก็บเกี่ยว การเก็บเกี่ยวอาจใช้แรงงานเก็บด้วยมือ ปัจจุบันมีการใช้ Harvester ติดตั้งในเรือทำให้เก็บเกี่ยวได้รวดเร็วมาก

ปัญหาการเพาะเลี้ยง ได้แก่ เชื้อรา

9.3 การเลี้ยงสาหร่ายขนาดใหญ่ในประเทศไทย

1.การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเชากวาง (*Gracilaria changii*)

สาหร่ายกรากซิลารียชนิดที่มีผู้ศึกษามากชนิดหนึ่งก็คือ *Gracilaria changii* (สาหร่ายเชากวาง) เนื่องจากเป็นสาหร่ายที่ให้คุณภาพสูงแต่มีปริมาณในธรรมชาติน้อย สมศักดิ์และคณะ (2530) กล่าวไว้ด้วยความหวังว่าสาหร่ายชนิดนี้อาจสูญพันธุ์ได้ก่อนที่โรงงานสกัดวุ้นจากสาหร่ายจะเกิดขึ้น การทดลองรวบรวมสปอร์ของสาหร่าย *G. changii* ของสมศักดิ์และคณะ (2530) พบว่าสามารถทำได้ดีในระบบปิดซึ่งผู้วิจัยนำสาหร่ายที่มีซิสโตคาร์พที่เก็บจากธรรมชาติมาใส่ในเรือที่เติมน้ำทะเลไว้ และใช้วัสดุรองรับสปอร์หลายชนิด ผลปรากฏว่าอวนในลอนใช้แล้วม้วนให้เหมือนเชือกให้ผลการรับสปอร์ที่ดีที่สุดในขณะที่การรองรับสปอร์ในธรรมชาตินั้นได้ผลไม่ดี ส่วนการเจริญเติบโตของสาหร่ายเมื่อทำการเลี้ยงหลังจากรวบรวมพบว่าได้ผลไม่ตนัก ซึ่งก็ได้มีรายงานต่อเนื่องออกมาในรายงานของ สมศักดิ์และคณะ (2532) ที่ทดลองเลี้ยง *G. changii* ในบ่อซีเมนต์ขนาด

7.2x12 เมตร ลึก 1.7 เมตร ที่อ่าวยาง ตำบลอ่าวใหญ่ จังหวัดตราด โดยนำสาหร่ายใส่กระชังในลอนชนิดตามุ้ง พบว่าการให้สารอาหาร N:P = 4:1 ทุกสัปดาห์ให้ผลการเจริญที่ดีที่สุด

จะเห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงโดยนำสาหร่ายจากธรรมชาติมาผูกติดกับวัสดุนั้นให้ผลที่ไม่ดี และยังต้องการพันธุ์สาหร่ายจากธรรมชาติในปริมาณมาก ในขณะที่การให้สปอร์ของสาหร่ายมาลงเกาะและเจริญเป็นต้นสาหร่ายบนวัสดุนั้นให้ผลที่ดีกว่าเพราะว่าต้นพันธุ์สามารถให้สปอร์แต่ละครั้งในปริมาณมาก ดังนั้นหากจะพัฒนาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายก็ควรต้องศึกษาวงจรชีวิตของสาหร่ายทะเลแต่ละชนิดเพื่อเป็นข้อมูลในการเตรียมขยายพันธุ์ ซึ่งองศ์ (2531) ได้เก็บตัวอย่างสาหร่ายเขากวาง (*G. changii*) จากจังหวัดตราดในรอบเวลา 1 ปี พบว่าสามารถพบต้นแกมีโตไฟต์ (gametophyte: จำนวนชุดโครโมโซม = n) เพศผู้และเพศเมีย ต้นเตตราสปอโรไฟต์ (tetrasporophyte: จำนวนโครโมโซม = 2n) และต้นที่ยังไม่สร้างเซลล์สืบพันธุ์พร้อมกันตลอดฤดูกาลที่พบสาหร่าย แต่จะมีต้นเตตราสปอโรไฟต์มากที่สุด โดยมีต้นแกมีโตไฟต์เพศผู้และเพศเมียที่พบมีอัตราส่วนใกล้เคียงกัน วิวรรณ (2537) ได้ใช้กระตุนให้หัลด์สของสาหร่ายเขากวางปล่อยสปอร์โดยการฝังลงที่อุณหภูมิ 26 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำสาหร่ายมาปล่อยสปอร์ในน้ำที่มีการให้อากาศเบา ๆ และมีเปลือกหอยเซลล์เป็นวัสดุรองรับการปล่อยสปอร์ เมื่อทิ้งไว้ประมาณ 24-36 ชั่วโมง สปอร์จะเกาะกับเปลือกหอย โดยสปอร์จะมีลักษณะกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 17.5-30 ไมโครเมตร มีความใสและมีวงควัตุหลายสีอยู่ปนกัน ได้แก่สีเขียว เหลือง น้ำตาลแดง น้ำเงินและชมพู โดยคาร์โปสปอร์จะเริ่มยึดติดกับวัสดุรองรับในเวลาประมาณ 24 ชั่วโมงแล้วจึงเริ่มแบ่งเซลล์ จนกระทั่ง 9-12 วันจึงจะเห็นส่วนโป่งนูนขึ้นมาตรงกลางกลุ่มเซลล์งอกกลายเป็นส่วนของหัลด์ส ซึ่งจากการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของแสงมีผลต่อการงอก และที่ความเค็ม 10-20 ppt คาร์โปสปอร์จะสามารถงอกเป็นต้นอ่อนได้เร็วกว่าที่ความเค็ม 30-36 ppt และการที่มีไดอะตอมจำนวนมากอยู่บนเปลือกหอยในน้ำความเค็มสูงน่าจะเป็นเหตุที่มีผลต่อการตายของสปอร์และสาหร่ายอ่อน ในการทดลองนี้คาร์โปสปอร์จะงอกได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 1000 ลักซ์เนื่องจากการทดลองที่ความเข้มข้น 2000 และ 4500 ลักซ์นั้น สปอร์จะตายหมดตั้งแต่สัปดาห์แรก เพราะมีไดอะตอมปริมาณมากหนาแน่นจนสาหร่ายไม่สามารถพัฒนาต่อไปได้

งานวิจัยต่อมาของวิวรรณ (2539) ได้ใช้เชือกในลอนเป็นวัสดุรองรับการเกาะของคาร์โปสปอร์ โดยเชือกในลอนยาว 40 เมตรจะพันพาดอยู่บนกรอบสี่เหลี่ยมที่ทำจากท่อพีวีซีขนาด 15x20 นิ้ว และแช่อยู่ในน้ำที่บรรจุอยู่ในกล่องโฟม มีการให้อากาศอย่างเบา ๆ ที่ผิวหน้าน้ำต่อนั้นจึงวางต้นแม่พันธุ์สาหร่ายให้จมอยู่เหนือเชือกในลอนและปิดกล่องให้มีมืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทั้งนี้เนื่องจากสาหร่ายปล่อยคาร์โปสปอร์ได้ดีในเวลากลางคืน (บุปผา, 2533) หลังจากนั้นจึงนำเปลือกหอยเซลล์ขนาด 2.5x2.5 เซนติเมตรวางบนกรอบเชือกสำหรับใช้ตรวจสอบปริมาณคาร์โปสปอร์ พบว่าการกระจายของคาร์โปสปอร์จะมีมากในบริเวณกลางกรอบสี่เหลี่ยม โดยมีจำนวนสปอร์เฉลี่ย 106 สปอร์ต่อตารางเซนติเมตร หรือถ้าคิดเป็นเส้นเชือกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ความยาว 1 เซนติเมตร จะมีสปอร์เกาะอยู่ประมาณ 53 สปอร์

การเลี้ยงสาหร่ายที่ลงเกาะบนเชือกแล้วของวิวรรณ (2539) ได้ทำต่อในกล่องโฟม โดยใช้ความเข้มข้น 2000 ลักซ์ มีช่วงแสงมืดสลับอย่างละ 12 ชั่วโมง ในน้ำทะเลหาเชื้อความเค็ม 15 ppt ปริมาตร 25 ลิตร เติมน้ำตามสูตรของ Povasori และเติมเยอร์มาเนียมไดออกไซด์ (GeO₂) ความเข้มข้น 0.5 ppm เพื่อป้องกัน

ไม่ให้ไดอะตอมมารบกวนการพัฒนาของคาร์โปสปอร์ มีการถ่ายน้ำและเติมปุ๋ยทุกสัปดาห์ เมื่ออนุบาลในกล่องโฟมครบ 1 เดือน ได้ขนาดทาลัสของสาหร่ายยาว 250-700 ไมโครเมตร จึงย้ายไปอนุบาลต่อในถังไฟเบอร์กลาสที่ได้รับแสงวันละ 4-5 ชั่วโมง ในน้ำความเค็ม 28-32 ppt และมีการถ่ายน้ำในถัง 20 เปอร์เซ็นต์ทุกสัปดาห์ จากการอนุบาลรวมสองเดือนได้อัตรารอดประมาณ 65 เปอร์เซ็นต์ แต่ก็พบว่าสาหร่ายสีเขียวขึ้นคลุมตันอวนอย่างหนาแน่น การย้ายสาหร่ายลงเลี้ยงโดยถอดเชือกออกจากกรอบพีวีซี และตัดเส้นเชือกออกเป็น 8 เส้น ยาวเส้นละ 5 เมตร แล้วต่อปลายเชือกทั้งสองข้างออกไปอีกด้านละ 50 เซนติเมตร สำหรับผูกกับหลักไม้ที่ปักในบ่อดินห่างกันประมาณ 5 เมตร โดยผูกเชือกห่างจากกันบ่อ 50 เซนติเมตร ในระดับน้ำลึก 1.2 เมตร ผลการเลี้ยงในบ่อดินเป็นเวลา 4 เดือน ได้อัตรารอดประมาณ 45 เปอร์เซ็นต์ ได้ความยาวเพิ่มขึ้นจาก 0.5-1 มิลลิเมตรเป็น 3-12.5 มิลลิเมตร ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสามารถเพาะพันธุ์สาหร่ายเขากวางได้แต่การเลี้ยงในบ่อดินยังมีการเจริญเติบโตได้น้อย

การเลี้ยงสาหร่ายในบ่อดินยังเป็นสิ่งที่จะต้องพัฒนาเพิ่มขึ้น และจะต้องเข้าใจปัจจัยพื้นฐานสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่าย การศึกษาของวิวรรณและอรุณี (2537) ที่รวบรวมพันธุ์สาหร่ายเขากวางจากจังหวัดตราดมาเลี้ยงในกระชังในบ่อดิน พบว่าการเลี้ยงสาหร่ายในกระชังบริเวณผิวน้ำจะให้ผลดีกว่าการเลี้ยงที่พื้นบ่อ เพราะน้ำในบ่อดินมีความขุ่นสูงในช่วง 50-90 เซนติเมตร แสดงว่าแสงเป็นปัจจัยจำกัดที่สำคัญ และการเก็บเกี่ยวเป็นประจำทุกเดือนในระยะเวลาเลี้ยง 4 เดือนจะให้ผลผลิตรวมสูงกว่าการเก็บเกี่ยวครั้งสุดท้ายเพียงครึ่งเดียว นอกจากนี้ความหนาแน่นของสาหร่าย 500 กรัมต่อตารางเมตรให้ผลผลิตที่สูงกว่าความหนาแน่น 250 กรัมต่อตารางเมตร โดยในระยะเวลา 4 เดือนสาหร่ายเพิ่มจากน้ำหนัก 500 กรัมเป็น 947 กรัม ในขณะที่รายงานของอรุณี (2539) ก็พบว่าการเลี้ยงสาหร่ายที่ระดับผิวน้ำจะมีผลผลิตที่ดีกว่าการเลี้ยงที่พื้นบ่อ และความหนาแน่นของสาหร่ายน้ำหนักร่วมกัน 500, 1000, 1500 และ 2000 กรัมต่อกระชังขนาด 0.8x0.8x0.3 ลูกบาศก์เมตรไม่มีผลต่อน้ำหนักเพิ่มอย่างมีนัยสำคัญ โดยในเวลา 4 เดือนสาหร่ายมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น 562-1220 กรัม โดยมีอัตราการเจริญเติบโต 8.0-21.2% ต่อเดือน

2. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายผมนาง (*Gracilaria fisheri*)

การคัดเลือกชนิดของสาหร่ายวุ้นเพื่อการเพาะเลี้ยง จากการเปรียบเทียบสาหร่ายกรากซิลเลีย 6 ชนิด คือ *G.fisheri*, *G.tenuistipitata*, *G.changii*, *G.edulis*, *G.salicornia* และ *G.irregularis* พบว่า *Gracilaria fisheri* หรือสาหร่ายผมนางได้รับการศึกษาพบว่าเป็นชนิดที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงเพื่อการผลิตวุ้นในประเทศไทยมากที่สุด เนื่องจากให้วุ้นคุณภาพดี มีค่าความแข็งของวุ้น (gel strength) เกิน 900 กรัม/ตารางเซนติเมตร มีอัตราการเจริญเติบโตสูงประมาณ 30% ต่อสัปดาห์ และทนต่อความเค็มในช่วงกว้างตั้งแต่ 10-30 ppt (กาญจนภาณุ และคณะ, 2536) ซึ่งการทดลองเลี้ยง *G.fisheri* ในประเทศไทยนี้ได้มีการศึกษามาเป็นเวลานานแล้ว นอกเหนือไปจากการเก็บเกี่ยวโดยธรรมชาติโดยชาวบ้านใช้คราดหรือมือตักต้นสาหร่ายนำขึ้นมา ตากแห้ง ได้มีผลการทดลองนำสาหร่ายผมนางไปเลี้ยงรวมในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ แต่ไม่ได้ผลดีนัก เพราะกุ้งจะมีผลผลิตลดลงเมื่อเลี้ยงร่วมกับสาหร่าย และบางครั้งพบการตายจับพันของกุ้งในบ่อที่เลี้ยงรวมกับสาหร่ายอีกด้วยซึ่งคาดว่าจะเกิดจากการขาดออกซิเจน (สุชาติ และบุญ, 2531)

การทดลองเพาะพันธุ์สาหร่ายผมนางโดยไพโรจน์และสุชาติ (2532) ประสบความสำเร็จเป็นอย่างดี โดยสามารถเพาะสปอร์จากสาหร่ายต้นพันธุ์ที่เก็บจากธรรมชาติ การใช้สภาพแห้งโดยทิ้งไว้ในอากาศที่

อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15-20 นาที่ จะกระตุ้นให้สาหร่ายปล่อยสปอร์โดยสปอร์จะมีลักษณะคล้ายสปอร์ของสาหร่ายเขากวางคือเป็นเซลล์รูปกลมขนาด 17-30 ไมโครเมตร มีรงควัตถุสีต่าง ๆ เช่น เขียวอ่อน เหลือง น้ำตาลอมแดง และน้ำเงิน อยู่ภายใน การเจริญเป็นต้นอ่อนเกิดได้ดีในน้ำความเค็มต่ำ 10-15 ppt ที่ความเข้มแสง 800-2000 ลักซ์ สาหร่ายอ่อนอายุ 41-58 วันจะมีความยาวจากฐานถึงปลายสุด 200-600 ไมโครเมตร ต่อมา ไพอัจน์ และสุชาติ (2534) ได้ทดสอบว่าสูตรของรับสปอร์ 4 แบบ คือ เชือกโพลี เชือกเส้นใยมะพร้าว อวนเส้นใยสังเคราะห์ และเส้นใยสังเคราะห์สีเขียวทำเป็นสาหร่ายเทียม พบว่าสามารถใช้ได้ทั้งสี่แบบ แต่การเปรียบเทียบจำนวนสาหร่ายต่อความยาววัสดุให้ผลต่างกันเนื่องจากวัสดุแต่ละชนิดมีรูปร่างต่างกัน ผลการรายงานจำนวนเฉลี่ยของสาหร่ายอ่อนพบว่า มีจำนวน 0.93 ต้น/ชม.บนเชือกโพลีสีแดง 0.33 ต้น/ชม.บนเชือกเส้นใยมะพร้าว 2.5 ต้น/อวนโพลี 1 ตา และ 2.43 ต้น/สาหร่ายเทียม 1 เส้น ซึ่งการใช้เชือกจะมีความยาวรวมมากกว่าทำให้ได้ลูกพันธุ์สาหร่ายมาเกาะอยู่มากกว่า

นอกจากนี้ ไพอัจน์ (2541) ได้ทดลองใช้เปลือกหอยตะโกรมที่ทุบให้แตกจนมีขนาดประมาณ 3-5 เซนติเมตรมาใช้เป็นวัสดุรองรับสปอร์พบว่าได้ผลดี โดยได้กล่าวว่าการใช้เปลือกหอยเพียง 100 ชิ้นกับต้นพันธุ์ที่มีกระเปาะสปอร์เพียง 100 กรัม ก็สามารถผลิตต้นพันธุ์สาหร่ายได้กว่าหกหมื่นต้นในเวลาหกสัปดาห์ แต่ปัญหาคือสปอร์จะลงเกาะจำนวนมากบนวัสดุเป็นจำนวนที่เกินความต้องการ (มากกว่า 800 ต้นต่อวัสดุ 1 ชิ้น) เพราะวัสดุแต่ละชิ้นเมื่อนำไปเลี้ยงจนโตเป็นสาหร่ายขนาดใหญ่จะมีสาหร่ายเหลือรอดเพียง 1-2 พุ่มเท่านั้น จึงควรมีการพัฒนาวิธีการควบคุมให้คาร์โปสปอร์ลงเกาะบนวัสดุในปริมาณความหนาแน่นที่เหมาะสม ไม่กระจุกตัวอยู่มากจนเกินไป (ประมาณ 15-20 ต้นต่อวัสดุ 1 ชิ้น)

การปล่อยสปอร์ของสาหร่ายแต่ละชนิดจะมีปริมาณที่ไม่เท่ากัน และขึ้นกับปัจจัยสภาพแวดล้อม การทดลองของระพีพรและกาญจนาภรณ์ (2536) แสดงให้เห็นว่าความเค็มของน้ำ อุณหภูมิ และระยะเวลาการฟุ้งลม มีผลต่อการปล่อยคาร์โปสปอร์และคาร์โปสปอร์ที่ปล่อยออกมาจะมีทั้งสปอร์ที่ติดและสปอร์เสีย ตลอดจนสาหร่ายจะมีระยะเวลาการปล่อยสปอร์นานหลายวัน ผลการฟุ้งลมต่อปริมาณสปอร์ ซึ่งจะเห็นได้ว่า *G.fisheri* มีปริมาณสปอร์มากกว่า *G.tenuistipitata* ระพีพรและกาญจนาภรณ์ (2536) ได้กล่าวถึงสาเหตุที่การฟุ้งลมกระตุ้นในสาหร่ายปล่อยสปอร์ได้เนื่องจากในธรรมชาติสาหร่ายจะแช่อยู่ในน้ำทะเล เมื่อนำมาฟุ้งลมจะทำให้ซีลโตคาร์พเริ่มเหี่ยวเพราะสูญเสียน้ำและความเข้มข้นของสารละลายภายในซีลโตคาร์พเพิ่มขึ้น เมื่อนำกลับมาแช่ในน้ำทะเล น้ำจะถูกดูดเข้าไปในซีลโตคาร์พทำให้คาร์โปสปอร์ขยายตัวและแรงดันออสโมติกในซีลโตคาร์พสูงขึ้น สปอร์จึงถูกดันให้หลุดออกไป แต่ถ้าฟุ้งลมไว้นานเกินไปจะทำให้ซีลโตคาร์พเหี่ยวมากเกินไปจนเซลล์เสื่อมสภาพ ทำให้การปล่อยสปอร์ลดลง สำหรับสัดส่วนเฉลี่ยของสปอร์ดีต่อสปอร์เสียของสาหร่าย *G.tenuistipitata* พบประมาณ 1.7:1 และสาหร่าย *G.fisheri* พบประมาณ 12:1 แสดงให้เห็นว่า *G.fisheri* ให้จำนวนสปอร์และปริมาณสปอร์ดีมากกว่าสปอร์เสีย และสำหรับผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการปล่อยสปอร์ของสาหร่าย *G.fisheri* พบว่าที่อุณหภูมิ 25 °C และความเค็ม 25 ppt เป็นระดับที่เหมาะสมที่สุด โดยมีจำนวนสปอร์ดีที่ปล่อยออกมา 1667 สปอร์และสปอร์เสีย 221 สปอร์ นอกจากนี้ยังพบว่าระยะเวลาที่มีการปล่อยสปอร์จากซีลโตคาร์พจะมีระยะตั้งแต่ 3-21 วัน

นอกจากนี้ยังได้มีการทดลองรับสปอร์ของสาหร่ายผสมจากธรรมชาติ โดยใช้อวนโพลีเป็นวัสดุรองรับ

สปอร์ที่บริเวณน้ำตื้นชายฝั่งบ้านเขาบ่อ ตำบลเกาะยอ จังหวัดสงขลา พบว่าหลังจากวางวัสดุในทะเลเป็นเวลา เดือนเศษจะมีสาหร่ายมาเกาะในปริมาณเฉลี่ยประมาณ 16-33 ต้นต่อตาอวน ต่อมาจะมีการแตกแขนงเจริญ กระจายอยู่บนแผงอวน โดยสาหร่ายจะใช้เวลาอีกประมาณ 3 เดือนจึงมีความยาว 15-25 เซนติเมตรซึ่งเป็น ขนาดที่จะเก็บเกี่ยวไปใช้เป็นประโยชน์ได้ ผลจากการศึกษาพบว่าผลผลิตอยู่ในระดับที่สูงพอสมควร โดยการใช้ อวนโพลีขนาด $1.2 \times 3.2 = 3.84$ ตารางเมตร จะให้ผลผลิตสาหร่ายเฉลี่ย 2.41 กิโลกรัมต่อตารางเมตร

การเลี้ยงสาหร่ายฝมนาง *G.fischeri* ในบ่อดินสามารถทำได้ง่ายกว่าสาหร่ายชนิดอื่นเนื่องจากมีความ ทนทานต่อการแปรผันของความเค็มในน้ำได้ดีกว่า การเลี้ยงสาหร่ายฝมนางในบ่อดินขนาด 5×20 เมตร ลึก 80 เซนติเมตร โดยเติมปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 20 ppm ทุก 14 วัน จะช่วยให้สาหร่ายมีผลผลิตที่ดีขึ้น โดยปริมาณสาหร่ายเริ่มต้น 750 กรัมต่อตารางเมตรจะเพิ่มเป็น 10,698 กรัมต่อตารางเมตรในระยะเวลาการ ทดลอง 98 วัน คิดเป็นน้ำหนักสาหร่ายสด 62,880 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี (สุวัฒน์, 2534) ส่วนการเลี้ยงสาหร่ายฝม นางในแหล่งน้ำเปิดจะพบปัญหาอื่น ๆ เช่น สาหร่ายถูกกินโดยปลาชนิดหินจุดขาว (*Siganus canaliculatus*) ซึ่งจะกินเฉพาะสาหร่ายต้นอ่อนแต่ไม่กินสาหร่ายต้นแก่ที่มีซิสโตคาร์พ และการมีสาหร่ายไส้ไก่ (*Enteromorpha* sp.) ขึ้นปกคลุมในบางฤดู จึงต้องมีการใช้วุ้นกันหรือเลี้ยงสาหร่ายในกระชัง (คณิตและดุสิต, 2535) การ ทดลองของเกรียงไกรและคณะ (2536) และ Lewmanomont and Kaewsuralikhit (1993) ที่ใช้วิธีการเลี้ยง สาหร่ายฝมนางแบบสอดในเส้นเชือกในบ่อดินในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (อ.คลองวาฬ) ที่มีการเปลี่ยนแปลงมวล น้ำตามธรรมชาติจากน้ำขึ้นน้ำลง พบว่าได้ผลผลิตที่ดีพอสมควร โดยน้ำหนักสาหร่ายรวมจากน้ำหนักเริ่มต้น 9 กิโลกรัม (สอดในเส้นเชือกทั้งหมด 16 เส้น) เพิ่มขึ้นเป็น 93 กิโลกรัมในระยะเวลา 2 เดือน โดยผลการทดลองที่ได้ จากการเลี้ยงแบบสอดเส้นเชือกจะสูงกว่าแบบวางสาหร่ายบนอวนมุ้งฟ้า

การเลี้ยงสาหร่ายฝมนางในบ่อดินที่จันทบุรีเป็นระยะเวลานานโดยวิวรรณ์และคณะ (2538) พบว่า สาหร่าย ที่อยู่ในบ่อกที่มีน้ำเคลื่อนไหว (เปิดเครื่องตีน้ำ) จะมีการเจริญเติบโตดีกว่า การเลี้ยงสาหร่ายที่ทำบนแผง ตาข่ายขนาด 1.5×2 ตารางเมตร จำนวน 60 แผง แบ่งเป็น 4 แถว เลี้ยงสาหร่ายฝมนางที่นำต้นพันธุ์มาจากอ่าว ปัตตานีในปริมาณแผงละ 1.5 กิโลกรัม ปริมาตรน้ำในบ่อ $25 \times 32 \times 1 = 800$ ลูกบาศก์เมตร มีการเติมปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0 จำนวน 300 กรัมทุกสัปดาห์ และเก็บเกี่ยวผลผลิตสาหร่ายทุกสองสัปดาห์โดยเก็บออกเฉพาะน้ำหนัก สาหร่ายที่เพิ่มขึ้นและคงเหลือสาหร่ายน้ำหนัก 1.5 กิโลกรัมเท่ากับน้ำหนักเริ่มต้นเพื่อเลี้ยงต่อ ได้ผลผลิต สาหร่ายที่เก็บเกี่ยวได้ 141 กิโลกรัมในระยะเวลา 8 เดือน ซึ่งยังเป็นผลผลิตที่ค่อนข้างต่ำ ซึ่งจากการสังเกตข้อมูล คุณภาพน้ำแสดงให้เห็นว่าความเค็มของน้ำลดลงมากในครึ่งหลังของการทดลองเนื่องจากมีฝนตก ในขณะที่ ความเข้มข้นแสงและปริมาณธาตุอาหารไม่มีผลต่อผลผลิตสาหร่าย

การทดลองของวิวรรณ์และคณะ (2538) ทำในบ่อบิดที่ไม่ได้มีการถ่ายน้ำ ทำให้เมื่อมีฝนตกความเค็ม ในบ่อจะลดลงมาก ในขณะที่การทดลองของเกรียงไกรและคณะ (2536) ทำในบ่อดินที่มีการเชื่อมต่อกับน้ำทะเล ธรรมชาติ น้ำในบ่อจึงมีการเปลี่ยนแปลงตามระดับน้ำขึ้นน้ำลงในทะเล ดังนั้นจึงมีสภาพแวดล้อมที่คล้ายกับการ เลี้ยงในธรรมชาติมากกว่า และเมื่อมีฝนตกลงมาน้ำก็จะถ่ายเทไปนอกบ่อไม่ทำให้ความเค็มลดลงมาก แนวความคิดการใช้บ่อเลี้ยงสาหร่ายที่มีการติดต่อกับน้ำขึ้นน้ำลงจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจ แต่ควรต้องมื การป้องกันสัตว์น้ำอื่นๆ เช่นปลาบางชนิดที่จะตามน้ำเข้ามากัดกินสาหร่าย ซึ่งก็ทำได้โดยการกั้นทางน้ำด้วยอวน ตาถี่

3. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายใบ (*Porphyra*)

สาหร่ายใบหรือจี๋ขายเป็นสาหร่ายที่เป็นที่รู้จักกันดี และเป็นอาหารในชีวิตประจำวันของคนไทยมานาน ทุกวันนี้เราต้องนำเข้าสาหร่ายใบจากต่างประเทศจำนวนมาก สาหร่ายใบประเทศไทยมี 3 ชนิดคือ *Porphyra vietnamensis*, *Porphyra crispata* และ *Porphyra* sp. โดยชนิด *P. vietnamensis* เป็นชนิดที่ชาวบ้านนิยมเก็บมาประกอบอาหาร ทั้งในสภาพสดและทำเป็นแผ่นตากแห้ง แต่ถึงแม้จะมีความต้องการมากและราคาสูงแต่ก็ยังไม่ได้มีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้อย่างจริงจังในประเทศไทย และในน่านน้ำไทยจะพบสาหร่ายใบขึ้นอยู่ตามธรรมชาติเพียงบางแห่งและมีปริมาณไม่มากนัก แต่ก็มีการศึกษาวงจรชีวิตของ *P. vietnamensis* โดยกาญจนาภาณุ และ Ogawa (2521) พบว่ามีวงจรชีวิต 2 ระยะ ระยะหนึ่งเป็น gametophyte ขึ้นเกาะบนก้อนหินหรือโขดหินที่น้ำท่วมถึงหรือสาครกระเซ็นถึงโดยโขดหินด้านที่รับคลื่นจะมีสาหร่ายใบขึ้นอยู่หนาแน่นและต้นยาวกว่า และมีใบสีเขียวเป็นมัน ขนาดกว้าง 0.3-3.6 เซนติเมตร ยาว 3-27 เซนติเมตร ส่วนโคนกว้างและเรียวเล็กทางปลาย ขอบย่นเป็นรอยจีบ พอแก่เต็มที่จะมีสีม่วงเข้มเกือบดำ ซึ่งจะพบสาหร่ายใบขึ้นอยู่เฉพาะช่วงฤดูที่อุณหภูมิต่ำและมีคลื่นลมแรงเช่นในเดือนตุลาคมและพฤศจิกายน จนถึงเดือนธันวาคมสาหร่ายใบจะโตเต็มที่ชาวบ้านจึงเริ่มออกเก็บสาหร่ายใบที่ขึ้นตามก้อนหินและโขดหิน อีกระยะหนึ่งเรียกว่า Conchocelis เป็นเส้นสาหร่ายขนาดเล็กขึ้นในเปลือกหอยหรือขึ้นรวมเป็นกลุ่มก้อน ซึ่งเป็นระยะพักจนกว่าสภาพแวดล้อมเหมาะสมจึงจะสร้าง conchospore ออกเป็น gametophyte ต้นใหม่ต่อไป

กาญจนาภาณุและ Ogawa (2521) รายงานว่าเซลล์สืบพันธุ์ตัวผู้ของสาหร่ายใบ มักจะเกิดก่อนเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย โดยเซลล์ธรรมดาที่อยู่บริเวณขอบนอกสุดจะเปลี่ยนแปลงเป็น spermatangium หลังจากนั้นจะมีการแบ่งเซลล์ได้เป็น spermatia 64 เซลล์ แต่ละ spermatia มีขนาด 3.4-4.3 ไมโครเมตร ส่วนเพศเมียเรียก carpogonium เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของเซลล์โดยสร้างท่อสั้น ๆ เรียกว่า trichogyne ขึ้นสำหรับรับการผสมจาก spermatia ซึ่งภายหลังจากการผสมแล้วจะแบ่งตัวต่อไปได้ carpospore จำนวน 8 เซลล์ ขนาด 9.6-8.1 ไมโครเมตร หลังจาก carpospore ถูกปลดปล่อยออกมาจากต้นแล้วจะงอกภายใน 1-2 วัน ได้ Conchocelis ลักษณะเป็นเส้นสาหร่าย ซึ่งมักจะชอบซ่อนไชเข้าไปเจริญในเปลือกหอยที่ตายแล้ว บริเวณเปลือกหอยด้านในโดยเฉพาะเปลือกหอยนางรม จะมองเห็นเป็นสีชมพูจาง ๆ ตรงบริเวณที่เคยเป็นสีเขียว หลังจากนั้นสีจะเข้มขึ้นและกระจายไปทั่วภายใน 5 สัปดาห์กลายเป็นสีม่วงคล้ำเกือบดำ

ระยะ Conchocelis นี้เป็นระยะพักที่สามารถเก็บไว้ได้เป็นระยะเวลานาน เมื่ออุณหภูมิของน้ำลดลงเหลือ 24-27 องศาเซลเซียส จึงจะสร้าง conchosporangium ที่มี conchospore จำนวน 2-12 อยู่ภายใน แต่ละเซลล์มีขนาด 12-20 ไมโครเมตร ประกอบด้วยโครมาโตฟอร์รูปดาว สีชมพูสด 1 อันขนาดใหญ่เต็มเซลล์ เมื่อเจริญเต็มที่เซลล์จะหลุดออกจากเปลือกหอยหาที่ยึดเกาะเพื่องอกเป็นต้นใหม่ต่อไป การงอกของต้นใหม่เกิดได้ 2 วิธี คือเกิดจาก conchospore ที่หลุดออกมาจากเปลือกหอย เมื่อมีฝนตกชุก อุณหภูมิและความเค็มของน้ำลดลง (ในเดือนตุลาคม-พฤศจิกายน) และอีกวิธีคือเกิดจาก monospore (สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ) จากต้นที่เจริญแล้วเปลี่ยนแปลงเซลล์บริเวณขอบไปเป็น monospore โดย 1 เซลล์จะเปลี่ยนเป็น 1 monospore หลุดออกจากต้นไปหาที่ยึดเกาะแล้วงอกใหม่ ระยะเวลาการงอกนั้นจะใช้เวลา 6 สัปดาห์ จึงจะมีขนาด 1-1.5 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นขนาดที่พอจะมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า วงจรชีวิตของสาหร่ายใบแสดงในภาพที่ 3.5.3-1

บทที่ 10

ประโยชน์และโทษของสาหร่าย

10.1 ด้านนิเวศวิทยา

1. สาหร่ายเป็นผู้ผลิตเบื้องต้น (Primary product) ที่สำคัญที่สุดในห่วงโซ่อาหารและเป็นผู้รักษาสสมดุลของออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ในระบบนิเวศ
2. ใช้เป็นดัชนีบอกสภาวะน้ำเสีย (Water pollution index) โดยเฉพาะมลพิษที่เกิดจากสารอินทรีย์ ได้แก่ ยูกลีนา (*Euglena*) , ไดอะตอม , ออสซิลลาทอเรีย (*Oscillatoria*) เซเนเดสมัส (*Scenedesmus*)
3. ใช้บำบัดน้ำเสีย มีรายงานว่าสาหร่ายน้ำจืดอย่างน้อย 80 ชนิด และสาหร่ายทะเล 15 ชนิดมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย ทั้งสาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ไดอะตอม สาหร่ายพวงอุบลยูกลีนา สาหร่ายสีแดงและสาหร่ายสีน้ำตาล
4. ใช้เป็นตัวชี้วัดความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำ เช่น ไดอะตอม

10.2 ด้านอาหาร

1. ใช้เป็นอาหารมนุษย์ ได้แก่ สาหร่ายสีแดง สีสน้ำตาล สีเขียว และสีเขียวแกมน้ำเงิน ประเทศที่นิยมบริโภคสาหร่ายได้แก่ ญี่ปุ่น จีน เกาหลี ญี่ปุ่นเป็นชาติที่บริโภคสาหร่ายทะเลเป็นอาหารมากที่สุด มีการเพาะเลี้ยงเป็นอุตสาหกรรม นอกจากนี้ยังใช้เป็นแหล่งโปรตีนเซลล์เดียว (Single cell protein) เพื่อแก้ปัญหาขาดโภชนาการด้านโปรตีนโดยใช้เป็นอาหารเสริมในรูปแคปซูลหรืออัดเม็ด ได้แก่ คลอเรลลา (*Chlorella*) และสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina*) ซึ่งมีปริมาณโปรตีนสูงถึง 60 % ของน้ำหนักแห้ง คุณค่าทางอาหารจากสาหร่าย ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน แร่ธาตุและวิตามิน
2. ใช้เป็นอาหารสัตว์ นิยมใช้สาหร่ายทะเลสีแดงและสีน้ำตาลเป็นอาหารเลี้ยง วัว แพะ แกะ ม้า เป็ด ไก่ หมู โดยให้กินสดๆ หรือนำมาตากแห้งและบดผสมกับอาหารอื่นๆ ปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็กหลายชนิดเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่น กุ้ง หอย ปู ปลา ได้แก่ คลอเรลลา สไปรูลินา สเกลีโตนีมา (*Skeletonema*) คีโตเซอรอส (*Chaetoceros*) ทาลาสซิโอไซรา (*Thalassiosira*) เตตราเซลมิส (*Tetraselmis*) นิตซ์เซีย (*Nitzschia*) ไอโซโครมิส (*Isochrysis*) ไรโซโซเลียเนีย (*Rhizosolenia*) เป็นต้น

10.3 ด้านการเกษตร

1. ใช้เป็นปุ๋ย สาหร่ายทะเลที่ใช้เป็นปุ๋ยพืชสดได้เพราะมีธาตุไนโตรเจนและโปแตสเซียมมากมีการผลิตปุ๋ยน้ำจากสาหร่ายสีน้ำตาล มีชื่อทางการค้าว่า Saegro และ Maxicrop สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

- น้ำเงินมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน (*Anabaena*, *Tolypothrix*) จึงมีการเพาะเลี้ยงร่วมกับ
เห่นแดงในนาข้าวเพื่อเพิ่มปุ๋ยไนโตรเจนหรือใช้หมักเป็นปุ๋ยพืชสดที่มีชื่อทางการค้า Alginure
2. ใช้ปรับสภาพดิน (Soil conditioners) ในอินเดียใช้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินปรับสภาพดินที่เป็น
เบสให้เป็นกลาง สาหร่ายส่วนมากจะอุ้มน้ำได้ดีจึงช่วยทำให้ดินชุ่มชื้น
 3. ใช้ป้องกันแมลงศัตรูพืช โดยใช้น้ำสกัดจากสาหร่ายทะเลชนิดพันธุ์ เช่น แดง หัวผักกาด มันฝรั่ง
พบว่าสามารถป้องกันเพลี้ยและเชื้อราได้

10.4 ด้านการแพทย์และเภสัช

1. ใช้ทำยารักษาโรค ชาวจีนใช้สาหร่ายสีน้ำตาลสกุล *Sargassum* รักษาโรคคอกพอก ใช้ต้มน้ำดื่มแก้
ร้อนใน แก้ไอ สมานแผล รักษาโรคเกาต์ โรคนี้ว ท้องเสีย ช่วยสมานแผล โรคแผลในกระเพาะ ใน
ยุโรปใช้เป็นยาถ่ายพยาธิ ปัจจุบันมีการผลิตยาระบายที่ทำจากสาหร่ายทะเลสีแดงมีชื่อทาง
การค้าว่า Alginure
2. ใช้สกัดสารปฏิชีวนะ (Antibiotics-Bioactive compounds) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สาหร่ายสี
เขียว สาหร่ายสีแดงและสาหร่ายสีน้ำตาลสามารถนำมาสกัดสารปฏิชีวนะซึ่งพบว่ายับยั้ง
การเจริญของแบคทีเรีย รา และไวรัสได้และยังพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายอีกหลาย
ชนิด เช่น สารฆ่าพยาธิ สารห้ามเลือด สารป้องกันการอักเสบ สารต้านเซลล์มะเร็งเม็ดโลหิตขาว
สารปราบวัชพืช สารยับยั้งการแข็งตัวของโลหิตแต่ส่วนใหญ่ยังไม่มีการผลิตในระดับอุตสาหกรรม
เพราะมีปริมาณไม่มากและต้นทุนสูงยกเว้นสารยับยั้งการแข็งตัวของโลหิตที่มีการผลิตเป็น
อุตสาหกรรมมาแล้ว

10.5 ด้านอุตสาหกรรม

ผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายที่มีความสำคัญด้านอุตสาหกรรมมากในปัจจุบันได้แก่

1. ไฟโคคอลลอยด์ (phycocolloids) ได้แก่ สารโพลีแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากผนังเซลล์ของสาหร่ายทะเล
สีแดงและสีน้ำตาล ไฟโคคอลลอยด์สำคัญที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีแดง คือ

- ภูโน (Agar)

- คาร์ราจีแนน (Carrageenan)

ไฟโคคอลลอยด์สำคัญที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล คือ

- อัลจีเนต (Alginate)

การใช้ประโยชน์จากการผลิตและการผลิตไฟโคคอลลอยด์ทั้ง 3 ชนิดนี้จะกล่าวถึงโดยละเอียดต่อไป

2. รงควัตถุ (Pigment) รงควัตถุที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมที่สกัดได้จากสาหร่าย คือ

2.1 คาโรทีนอยด์ (Carotenoids) ได้แก่ เบต้าแคโรทีน (B-Carotene) และแอสตาแซน

(Astaxanthin) ใช้เป็นสีผสมอาหารและเป็น Feed colourants ในอาหารไก่และปลาเพื่อเพิ่มสีในไข่และเนื้อ ใช้

เร่งการเจริญเติบโตและการเจริญพันธุ์ของโคเบตาคาโรทีน สกัดได้จากสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียว ชื่อ *Dunaliella salina* ส่วนแอสตราแซนทีนสกัดได้จากสาหร่ายสีเขียว ชื่อ *Haematococcus pluvialis*

2.2 ไฟโคบิลิน (Phycobilin) ได้แก่ ไฟโคไซยานิน (Phycocyanin) และไฟโคอีริทริน (Phycocerythrin) เป็นรงควัตถุที่สกัดได้จากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายสีแดงใช้เป็นสีผสมอาหารและเครื่องสำอาง และใช้ในงานวิจัย เช่น Immunofluorescent labelling

3. กรดไขมัน (Fatty acid) ในสาหร่ายมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้แก่

- Arachidonic acids (AA)
- Eicosapentaenoic acids (EPA)
- Docosahexaenoic acid (DHA)

กรดไขมันเหล่านี้มีรายงานว่า สามารถป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ ภูมิแพ้ มะเร็ง หืดได้ โดยนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับสังเคราะห์ฮอร์โมนโพรสตาแกลนดิน สังเคราะห์คอเลสเตอรอล ด้านเภสัชกรรม อุตสาหกรรมเครื่องสำอางและอาหารเสริมสุขภาพ

สาหร่ายที่เป็นแหล่งของกรดไขมันเหล่านี้ได้แก่

สาหร่ายสีแดง ชื่อ *Porphyridium cruentum* ให้ AA และ EPA

ไดอะตอม ชื่อ *Phaeodactylum tricornutum* ให้ EPA

คริปโตโมแนด ชื่อ *Chroomonas salina* ให้ DHA

4. แร่ธาตุ สาหร่ายทะเลสีน้ำตาลเป็นแหล่งสำคัญของแร่ธาตุในช่วงศตวรรษที่ 17-19 เช่น โซเดียม คาร์บอเนต โพแทสเซียม และไอโอดีน แร่ธาตุพวกหินปูนส่วนมากเกิดจากซากทับถมของสาหร่ายพวก Chrysophyta และจากสาหร่ายสีเขียวและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิด มีความสำคัญในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น เซรามิก ปูน ผงขัด แผ่นกรอง ซีเมนต์ พลาสติก ยาง และสี เป็นต้น

5. ไดอะตอมไมต์ (Diatomite หรือ Diatomaceous earth) เป็นสารซิลิกอนไดออกไซด์ที่ได้จากผนังเซลล์ของไดอะตอมที่ตายทับถมกันอยู่ในทะเลเป็นเวลานาน มีคุณสมบัติสำคัญ คือ มีรูพรุน น้ำหนักเบา มีพื้นผิวมาก ทนไฟ ไม่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา นำมาใช้เป็นไส้กรองหรือสารช่วยกรอง (Filter aids) มีชื่อสามัญว่า ดินเบา ใช้ผสมกระดาษหรืออู่เพื่อให้ทนไฟ ใช้ทำผงขัด ยาสีฟัน ทำเป็นชนวนกันความร้อนในอุปกรณ์ไฟฟ้า และเตาเผา

6. เอนไซม์ สาหร่ายสามารถผลิตเอนไซม์ที่สำคัญในอุตสาหกรรมและการทดลองในห้องปฏิบัติการได้หลายชนิด เช่น Phosphoglycerate Kinase (PGK) จาก Spirulina , Luciferase จาก Dinoflagellate ใช้สำหรับตรวจหา ATP , Restriction endonuclease จาก Anabaena ใช้ทำลายสายพันธุ์กรรมแปลกปลอมในเซลล์ , Superoxide dismutase (SOD) จาก Spirulina ใช้จับอนุมูลอิสระที่ทำลาย DNA , protien ใช้รักษา มะเร็ง

10.6 ด้านการศึกษาวิจัยทางวิทยาศาสตร์

การศึกษาวิจัยทางวิทยาศาสตร์ ตัวอย่าง เช่น *Chorella* ใช้ศึกษาขบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงการทดลองทางสรีระวิทยาและพิษวิทยา *Chlamydomonas* และ *Acetabularia* ใช้ศึกษาด้านพันธุกรรมและโครงสร้างของเซลล์ ไดอะตอม ชื่อ *Navicula* ใช้ทดสอบความแน่นชัดของเลนส์กล้องจุลทรรศน์

10.7 ด้านพลังงาน

มีการทดลองเลี้ยงสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่เพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิง เช่น มีเทนและเมทานอนเพื่อทดแทนน้ำมันปิโตรเลียม สาหร่ายหลายชนิดสามารถสังเคราะห์ สารไฮโดรคาร์บอนและไขมันได้สูงซึ่งสามารถเปลี่ยนเป็นน้ำมันปิโตรเลียมโดยขบวนการทางธรรมชาติได้ ดังนั้นซากของไดอะตอมและสาหร่ายบางชนิดเหล่านี้จึงเป็นประโยชน์ในการสำรวจแหล่งน้ำมันโดยใช้คำนวณปริมาณน้ำมันในชั้นหินที่มีซากสาหร่ายเหล่านี้ได้

10.8 โทษของสาหร่าย

1. ทำให้น้ำมีกลิ่น สี รสเปลี่ยนไป โดยเฉพาะในแหล่งน้ำที่ใช้ในการบริโภค ถ้าในแหล่งน้ำนั้นมีธาตุอาหารมากทำให้สาหร่ายเจริญและทวีจำนวนอย่างรวดเร็วจนเต็มผิวน้ำ เรียกว่า ยูโทรฟิเคชัน (Eutrofication Water bloom) ทำให้น้ำมีกลิ่น สีและรสเปลี่ยนไปไม่เหมาะต่อการบริโภคและทำให้ท้องน้ำหรือแผ่นกรองน้ำอุดตัน
2. เป็นอันตรายต่อคนและสัตว์ สาหร่ายสามารถสร้างสารที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ได้ โดยเฉพาะสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายพวกไดโนแฟกเจลเลต มีรายงานว่า นก แกะ ม้าและวัวที่ดื่มน้ำที่มีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เช่น ไมโครซิสติส (*Microcystis*) และอนาบีนา (*Anabaena*) ปนอยู่ถึงแก่ความตาย การเพิ่มจำนวนของพวกไดโนแฟกเจลเลตและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในทะเล เช่น นอคติลลิกา (*Noctiluca*) กอนยัลแลกซ์ (*Gonyaulax*) กลีโนดิเนียม (*Glenodinium*) ไทรโคเดสเมีย (*Trichodesmium*) แอนาบีนา (*Anabaena*) เป็นต้น จะทำให้น้ำบริเวณนั้นเป็นพิษและเปลี่ยนสีเป็นสีแดงหรือสีเขียวโพล เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า ซึ่ปลาวาฬ (Red tide) ทำให้ปลาและสัตว์น้ำบริเวณนั้นตายหรือสะสมในหอยถ้าคนบริโภคปลาหรือสัตว์น้ำเหล่านั้นเข้าไปก็จะอันตรายด้วย สารพิษจากสาหร่ายเหล่านี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท (Neurotoxin) กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต่อเซลล์ตับ (Hepatotoxin) และกลุ่มที่ออกฤทธิ์ต่อเซลล์ทั่วไปหรือทำให้เกิดอาการผื่นคันหรือพุพองที่ผิวหนัง
3. ทำให้อาหาร สิ่งก่อสร้างและเรืออวกปรกและผูกเรือรวดเร็ว ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการทำความสะอาดและทาสีใหม่ สาหร่ายที่เจริญเกาะตามท้องเรือทำให้เรือเล่นช้าลงสิ้นเปลืองเชื้อเพลิง

4. ทำให้ทัศนียภาพของแหล่งท่องเที่ยวดูสกปรกไม่สวยงาม ถ้าแหล่งน้ำนั้นมีสาหร่ายมากเกินไป เช่น บริเวณชายหาด สระ หนองบึง ทะเลสาบ อ่างเก็บน้ำที่เป็นที่ท่องเที่ยวและพักผ่อน ทำให้ไม่เหมาะแก่การว่ายน้ำ ตกปลา เล่นเรือหรือกีฬาทางน้ำอื่นๆและทำให้แหล่งน้ำตื้นเขินเร็วขึ้น
5. สาหร่ายบางชนิดเป็นพาราไซต์ของพืชเศรษฐกิจ เช่น ชา กาแฟ

บทที่ 11

สารสกัดจากสาหร่าย

11.1 วุ้น (Agar)

สาหร่ายทะเลสีแดงที่ให้วุ้น เรียกว่า เอกาโรไฟต์ (Agarophyte)

องค์ประกอบทางเคมี เป็นโพลิเมอร์ของเอกาโรส (agarose) กับเอกาโรเพคติน (Agaropectin) เอกาโรสเกิดจากสายของ 1,3-linked B-D-galactopyranose สลับกับ 1,4-linked 3,6-anhydro L-L-galactopyranose ส่วนเอกาโรเพคตินมีโครงสร้างทางเคมีคล้ายเอกาโรสแต่มีประจุมากกว่าและมีกาแลกโตสซัลเฟตเป็นองค์ประกอบ

วัตถุดิบ สาหร่ายทะเลสีแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการสกัดวุ้นในปัจจุบัน คือ *Gelidium Gracilaria* และ *Pterocladia* แหล่งผลิตวัตถุดิบที่สำคัญอยู่ที่เอเชียและละตินอเมริกาส่วนใหญ่ได้มาโดยการเก็บเกี่ยวจากธรรมชาติ ยังมีการเพาะเลี้ยงน้อย

การสกัดและการผลิต วุ้น โดยเลือกชนิดของวัตถุดิบ นำมาทำความสะอาด สกัดวุ้นออกจากน้ำร้อน กรองกากออก ทิ้งให้วุ้นแห้งตัว และกำจัดน้ำออก ทำให้แห้ง บรรจุขายในรูปวุ้นแผ่น วุ้นเกล็ดหรือวุ้นผง

คุณสมบัติ วุ้นละลายในน้ำร้อน เมื่อเย็นลงจะแข็งเป็นวุ้น สามารถเกิดเจลได้ในความเข้มข้นต่ำ (1-2%) อุณหภูมิการเป็นเจลประมาณ 35 องศา และละลายที่อุณหภูมิประมาณ 85 องศา

วุ้นแบ่งได้เป็น 3 เกรด ตามลักษณะการใช้ประโยชน์

1. Food grade หรือ Commercial grade ใช้ในการผลิตภัณฑอาหารและอุตสาหกรรมต่างๆที่มีค่าความแข็งไม่เกิน 400 กรัม/ลบ.ซม.
2. Bacteriological grade เป็นวุ้นที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ มีค่าความแข็งอยู่ระหว่าง 400-700 กรัม/ลบ.ซม.
3. Agarose หรือ Purified agar เป็นวุ้นบริสุทธิ์ ใช้ในการศึกษาวิจัยด้านชีวเคมี ค่าความแข็งเกิน 700 กรัม/ลบ.ซม. ขึ้นไป

การใช้ประโยชน์

1. ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยใช้บริโภคโดยตรงหรือใช้ผสมในอาหารเพื่อปรับปรุงคุณภาพหรือให้มีลักษณะตามที่ต้องการ เช่น ในผลิตภัณฑ์ขนมอบ ไอศกรีม เนยแข็ง โยเกิร์ต มายองเนส ซุป แยม น้ำสลัด ซอสมะเขือเทศ เบียร์ ไวน์ น้ำผลไม้ อาหารกระป๋องประเภทเนื้อสัตว์
2. ใช้ในอุตสาหกรรมยาและเครื่องสำอาง เช่น ใช้ทำยาระบาย ทำแม่พิมพ์ฟัน และอุปกรณ์ผสมยา ทำปอดหุ้มยา ผสมเครื่องสำอางพวกครีมและโลชั่นต่างๆ
3. ใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ เช่น ใช้เคลือบเส้นด้าย ผสมหมึกพิมพ์ กาว เคลือบฟิล์มถ่ายภาพ ผสมผงซักฟอก น้ำมันเคลือบเงา
4. ใช้เป็น Culture medium ในการเลี้ยงจุลินทรีย์ ในงานด้านจุลชีววิทยา การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

5. ใช้ในงานวิจัยขั้นสูงและด้านเทคโนโลยีชีวภาพ เช่น Electrophoresis , Chromatography , Immobilized technology

11.2 คาร์ราจีแนน (Carrageenan)

การใช้คาร์ราจีแนนในอุตสาหกรรมเริ่มต้นขึ้นใน ค.ศ. 1940 เมื่อมีการผลิตนมช็อกโกแลต และต้องการสารที่เป็นตัวทำให้นมเกิดการคงสภาพ (Stabilizer)

องค์ประกอบทางเคมี เกิดจากโพลีเมอร์ของ 1,3- Linked B-D-galactopyranosyl สลับกับ 1,4-Linked-L-D-galactopyranosyl คาร์ราจีแนนแบ่งออกได้ 2 กลุ่ม คือ

1. μ , ν , κ , ι carrageenan ละลายได้ในน้ำเย็นและตกตะกอนในสารละลายที่มีไอออนของโปตัสเซียมหรือในต่างอื่นๆ
2. λ และ ξ carrageenan ละลายในน้ำเย็นแต่ไม่ตกตะกอนในสารละลายที่มีไอออนของโปตัสเซียม

คาร์ราจีแนนที่ใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมส่วนมากเป็นแคปปา ไอโอตา และแลมบ์ดา

วัตถุดิบ

สาหร่ายทะเลสีแดงที่ให้คาร์ราจีแนนรวม เรียกว่า คาร์ราจีโนไฟต์ (Carrageenophyte) ซึ่งมีหลายชนิด แต่ที่ใช้เป็นวัตถุดิบหลักได้แก่ *Chondrus* , *Gigartina* , *Euclima* , *Furcellaria* และ *Hypnea*

การสกัดและการผลิตคาร์ราจีแนน

นำสาหร่ายมาล้าง บด และต้มในด่าง กรอง ปรับ pH จะได้คาร์ราจีแนนเข้มข้น ทำให้ตกตะกอน ทำให้แห้ง

การใช้ประโยชน์

แคปปาคาร์ราจีแนนผสมกับแลมบ์ดาคาร์ราจีแนนใช้เป็นตัวทำให้ข้น (Thickening) ส่วนแคปปาคาร์ราจีแนนเมื่อผสมกับไอโอตาคาร์ราจีแนนใช้เป็นตัวทำให้เหนียว (Gelling) ส่วนใหญ่ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์นม อาหารสำเร็จรูป ยาสีฟัน ครีมโกนหนวด สบู่ เครื่องสำอาง

11.3 อัลจีเนต (Alginate)

ผู้ค้นพบอัลจีเนตเป็นนักเภสัชชาวอังกฤษ ชื่อ E.C Stanford เมื่อ ค.ศ. 1880 แต่การนำเอาอัลจีเนตมาใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมเกิดขึ้นใน ค.ศ. 1929 โดยบริษัท Kelco (Merck) ประเทศผู้ผลิตที่สำคัญได้แก่ สหรัฐอเมริกา อังกฤษ นอร์เวย์ แคนาดา ฝรั่งเศส ญี่ปุ่น และจีน

องค์ประกอบทางเคมี อัลจีเนตเป็นโพลีเมอร์ของ D-guluronic acid และ L-mannuronic acid ซึ่งทำให้เกิดการต่อกันได้ 3 แบบ คือ G block, M block และแบบผสม

วัตถุดิบ

สาหร่ายสีน้ำตาลที่ให้อัลจิเนตมีชื่อเรียกรวมว่า อัลจิโนไฟต์ (Alginophyte) ได้แก่

Macrocystis, Laminaria, Lessonia, Ascophyllum, Alaria, Ecklonia, Nereocystis, Sargassum, Cystoseira และ *Fucus* แต่ที่ใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิต คือ *Macrocystis pynera* และ *Ascophyllum nodosum* ซึ่งมีมากตามชายฝั่งของประเทศที่เป็นผู้ผลิตใหญ่ในออสเตรเลีย อินเดีย เม็กซิโก อาร์เจนตินา ชิลี และแอฟริกา

การสกัดและการผลิตอัลจิเนต

โดยนำสาหร่ายมาบด ล้างและแยกอัลจิเนตออกแล้วแต่ว่าจะอยู่ในรูปของเกลือชนิดใด (โซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม หรือโปตัสเซียม) วิธีการสกัดส่วนมากใช้วิธีของ Green หรือ วิธีของ Le Gloahec และ Herter ซึ่งจดลิขสิทธิ์ไว้เมื่อ 50 ปีมาแล้ว

คุณสมบัติ อัลจิเนตละลายได้ดีทั้งในน้ำเย็นและน้ำร้อนเมื่อละลายจะได้สารข้นเหนียว (1%)

การใช้ประโยชน์

อัลจิเนตส่วนมากใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ผสมในไอศกรีม ขนมหั่นแข็ง น้ำสลัด ผลิตภัณฑ์นม ขนมอบ เครื่องดื่ม เยลลี่ อาหารสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก ใช้เคลือบกระดาษกันซึม เคลือบเส้นใยทำให้สีติดชัดและสวย ใช้ผสมสีทาเพื่อให้ทาได้เรียบไม่เห็นรอยแปรงและไม่หยดเปรอะเปื้อน ใช้เคลือบหนัง ผสมคาร์บอนทำไส้ดินสอ ผสมยาฆ่าแมลง เคลือบเครื่องปั้นดินเผา เคลือบลวดเชื่อมโลหะ เคลือบอิเล็กทรอนิกส์ เคลือบอาหารสัตว์น้ำ ใช้ในอุตสาหกรรมเวชภัณฑ์ เช่น ใช้ทำปลอกหุ้มยา ทำแม่พิมพ์ฟัน ทำพลาสติกหุ้มเลือด ใช้ในเทคนิค Cell immobilization ทำ Biocatalyst เพื่อผลิตสารต่างๆ เช่น เบียร์ กรดซิตริก อะซิโตน เอทานอล เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

กาญจนาภรณ์ ลิ้มโนมนต์ 2527 สำหรับ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรุงเทพฯ 343 น.

ธิดา เพชรมณี 2542 คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

ชายฝั่ง กรมประมง สงขลา 49 น.

ลัดดา วงศ์รัตน์ 2540 คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน คณะประมง มหาวิทยาลัย

เกษตรศาสตร์ 117 น.

สมภาพ อินทรสุวรรณ 2529 เอกสารคำสอนวิชา marine biotechnology ภาควิชาชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ 90 น.

สรวิศ เผ่าทองสุข 2543 สำหรับศักยภาพการวิจัยและพัฒนา ศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยี

แห่งชาติ กรุงเทพฯ 356 น.

อักษร ศรีเปล่ง 2529 สำหรับ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 51 น.

อิทธิพร จันทรเพ็ญ 2532 อาหารและการให้อาหารปลา กุ้ง สำนักพิมพ์ขอนแก่นนทรี กรุงเทพฯ

108 น.

หนังสือตอบรับการเป็นผู้ทรงคุณวุฒิเพื่อประเมินตำรา

ตามที่คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
เรียนเชิญข้าพเจ้าเป็นคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิทำหน้าที่ประเมินผลงานทางวิชาการ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง เพื่อการรับรองคุณภาพประเภท งานแต่ง เรียบเรียง
ตำรา หรือหนังสือ ของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์มานิช ขำเจริญ เรื่อง การเพาะเลี้ยงสาหร่าย นั้น ข้าพเจ้า
ได้รับทราบแล้ว และ

- ☒ ยินดีพิจารณาผลงานทางวิชาการ
☐ ไม่สามารถพิจารณาผลงานทางวิชาการได้

ในการนี้ ข้าพเจ้าได้ให้ที่อยู่ซึ่งสามารถติดต่อได้สะดวก (พร้อมหมายเลขโทรศัพท์)
ในโอกาสต่อไป ดังนี้

คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มทร.ศรีวิชัย ม.สุรินทร์ อ.เสด็จ
ณ สุรินทร์ ๑๕๐๐๐

สาขาอื่นที่สามารถพิจารณาได้ คณะเกษตรศาสตร์ มทร.ศรีวิชัย ม.สุรินทร์ อ.เสด็จ

ปัจจุบันดำรงตำแหน่งทางวิชาการ ☐ อาจารย์ ☒ ผศ. ☐ รศ. ☐ ศ.

คุณวุฒิทางการศึกษา/สาขาวิชา/สถาบันการศึกษา ม.อ. (วิทยาลัยการศึกษาม.อ.สงขลา)
สาขาวิชา ม.อ. สงขลา

ลงชื่อ.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สำเนา เสาวกุล)

วันที่ ๒๑ / ๗ / ๕๕

สำนักงานคณบดี

โทร. ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

โทรสาร ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

แบบประเมินตำรา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

1. ข้อมูลเบื้องต้นของตำรา

ตำรานี้ใช้สำหรับการเรียนการสอนในรายวิชา.....

ระดับ.....ภาคเรียน.....

คณะ/วิทยาลัย.....

2. เกณฑ์สำหรับประเมิน

2.1 ความถูกต้องและความทันสมัยของเนื้อหา หมายถึง เนื้อหาถูกต้องตามหลักวิชาการของศาสตร์ในสาขาวิชานั้น ๆ และความถูกต้องนั้นเป็นที่ยอมรับกันว่าถูกต้องในปัจจุบัน สิ่งที่ควรพิจารณา เช่น ทฤษฎี สูตร กฎการทดลอง ข้อมูล การตีความหมาย หลักฐานการอ้างอิง ศักยภาพ ฯลฯ (ยกเว้นการเสนอ กฎ หรือทฤษฎี แนวคิดใหม่)

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.2 ความสมบูรณ์และความลึก หมายถึง ความครบถ้วนของเนื้อหาหรือเรื่องราวที่ถือเป็นขอบข่ายของชื่อตำราแต่ละบทแต่ละตอน ประกอบด้วยรายละเอียดซึ่งเป็นหลักวิชาการของศาสตร์ ในสาขาวิชานั้น ๆ มีคำอธิบายและตัวอย่าง เพื่อขยายหลักวิชาอย่างละเอียดถี่ถ้วน ควรมีส่วนประกอบที่สำคัญของตำรา เช่น คำนำ สารบัญ ตาราง บัญชีภาพหรือแผนภูมิประกอบ ฯลฯ ซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่การอ่าน การค้นหาในโอกาสต่อไป

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.3 การจัดเรียงลำดับเนื้อหา หมายถึง ลำดับขั้นตอนในการเสนอเรื่องราวที่จะสอน เพื่อความเข้าใจง่ายของผู้เรียน หรือ ผู้อ่าน

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.4 รูปแบบในการเขียน หมายถึง ในแต่ละเรื่องที่เขียนระบุความคิดรวบยอดของเรื่องชัดเจนและมีการอธิบายขยายความคิดรวบยอดนั้น ๆ ในลักษณะสามารถสื่อความหมายได้ดีพอสมควร อาจมีภาพ แผนภูมิ ตาราง ฯลฯ ประกอบเพื่อความเข้าใจและให้น่าสนใจ มีความประณีตในการจัดวรรคตอนแต่ละช่องไฟ มีการอ้างอิงแหล่งวิชาการในที่ควรอ้างอิง มีแบบแผนในการเขียนอ้างอิงจัดทำบรรณานุกรมและภาคผนวกไว้อย่างเหมาะสม

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.5 การศึกษาค้นคว้าเพื่อสนับสนุนการเขียนตำรา หมายถึง ปริมาณการศึกษาค้นคว้าตำรา เอกสาร และ/หรือ รายงานการวิจัยที่จะช่วยให้ผู้เรียนมีความรู้ความสามารถ ในรายวิชานั้น หรือให้ผู้อ่านได้มีความรู้และสามารถสืบค้นเพิ่มเติมได้อย่างกว้างขวาง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.6 ความเหมาะสมและความถูกต้องในการใช้ภาษา หมายถึง การใช้ภาษาในการเขียนเป็นแบบแผนของภาษาไทย ใช้ศัพท์บัญญัติ ศัพท์ทางเทคนิค รวมทั้งตัวสะกด การันต์ ถูกต้อง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.7 การเสนอแนวคิดของตนเอง หมายถึง การสอดแทรกความคิด ความเห็นเพิ่มเติมในตอนต่าง ๆ ของเรื่อง อาจจะเป็นข้อวิพากษ์วิจารณ์ คำสรุป ข้อเสนอแนะ การประยุกต์เนื้อหาสาระต่าง ๆ รวมทั้งแนวคิดและความรู้ใหม่ที่เกิดจากการวิเคราะห์และสังเคราะห์

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.8 คุณค่าของตำรา หมายถึง ประโยชน์ ความสำคัญและความเชื่อถือได้ ในการที่นำตำรา ไปใช้ประกอบการสอน หรือใช้เพื่อสื่อการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม และใช้อ้างอิง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.9 ความเห็นอื่น ๆ

3. สรุปผลการประเมินตำรา

(โดยจะต้องสอดคล้องกับเกณฑ์การประเมินในข้อ 2.1-2.8)

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะและส่งผลงานให้อ่านใหม่อีกครั้ง
3. ☐ ต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะก่อนเผยแพร่ผลงานครั้งใหม่
4. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

4. สรุปผลประเมิน โปรดสรุปผลการประเมินผลงานตำรา และเสนอความคิดเห็นด้วย

(โปรดดูตัวอย่าง)

ขอเสนอให้ปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะที่ได้รับจากผู้ทรงคุณวุฒิ
 และขอเสนอให้พิจารณาให้รางวัลแก่ผู้เขียนตำรา
 ที่มีความรู้และประสบการณ์สูง

ลงชื่อ..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สำเนา เสาวกุล)

27 / พ.ค. / ๖๖

หนังสือตอบรับการเป็นผู้ทรงคุณวุฒิเพื่อประเมินตำรา

ตามที่คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
เรียนเชิญข้าพเจ้าเป็นคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิทำหน้าที่ประเมินผลงานทางวิชาการ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง เพื่อการรับรองคุณภาพประเภท งานแต่ง เรียบเรียง
ตำรา หรือหนังสือ ของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์มานิช ขำเจริญ เรื่อง การเพาะเลี้ยงสาหร่าย นั้น ข้าพเจ้า
ได้รับทราบแล้ว และ

- ☒ ยินดีพิจารณาผลงานทางวิชาการ
☐ ไม่สามารถพิจารณาผลงานทางวิชาการได้

ในการนี้ ข้าพเจ้าได้ให้ที่อยู่ซึ่งสามารถติดต่อได้สะดวก (พร้อมหมายเลขโทรศัพท์)
ในโอกาสต่อไป ดังนี้

คณะบริหารมหาวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตคลองใหญ่
อาคาร ๕.๑๐ ชั้น ๓ อ.พังโคน จ.สกลนคร ๔๗๑๖๐
สาขาอื่นที่สามารถพิจารณาได้..... มทร.ศรีวิชัย

ปัจจุบันดำรงตำแหน่งทางวิชาการ ☐ อาจารย์ ☒ ผศ. ☐ รศ. ☐ ศ.

คุณวุฒิทางการศึกษา/สาขาวิชา/สถาบันการศึกษา.....
อ.ท.ม. มทร.ศรีวิชัย มทร.ศรีวิชัย วิทยาเขตคลองใหญ่
อ.ท.ม. มทร.ศรีวิชัย อ.พังโคน จ.สกลนคร

ลงชื่อ.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นิสาชล ถาแก้วมา)

วันที่ ๒๖ / พ.ค. / ๕๗

สำนักงานคณบดี

โทร. ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

โทรสาร ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

แบบประเมินตำรา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

1. ข้อมูลเบื้องต้นของตำรา

ตำรานี้ใช้สำหรับการเรียนการสอนในรายวิชา.....
ระดับ.....ภาคเรียน.....
คณะ/วิทยาลัย.....

2. เกณฑ์สำหรับประเมิน

2.1 ความถูกต้องและความทันสมัยของเนื้อหา หมายถึง เนื้อหาถูกต้องตามหลักวิชาการของศาสตร์ในสาขาวิชานั้น ๆ และความถูกต้องนั้นเป็นที่ยอมรับกันว่าถูกต้องในปัจจุบัน สิ่งที่ควรพิจารณา เช่น ทฤษฎี สูตร กฎการทดลอง ข้อมูล การตีความหมาย หลักฐานการอ้างอิง ศักยภาพ ฯลฯ (ยกเว้นการเสนอ กฎ หรือทฤษฎี แนวคิดใหม่)

เนื้อหาถูกต้องตามหลักวิชาการ

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.2 ความสมบูรณ์และความลึก หมายถึง ความครบถ้วนของเนื้อหาหรือเรื่องราวที่ถือเป็นขอบข่ายของชื่อตำราแต่ละบทแต่ละตอน ประกอบด้วยรายละเอียดซึ่งเป็นหลักวิชาการของศาสตร์ ในสาขาวิชานั้น ๆ มีคำอธิบายและตัวอย่าง เพื่อขยายหลักวิชาอย่างละเอียดถี่ถ้วน ควรมีส่วนประกอบที่สำคัญของตำรา เช่น คำนำ สารบัญ ตาราง บัญชีภาพหรือแผนภูมิประกอบ ฯลฯ ซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่การอ่าน การค้นหาในโอกาสต่อไป

บทนำและบทที่ 1 - เนื้อหาไม่ครบถ้วนตามที่กำหนด

- ควรใส่ตาราง 6, ตาราง 7

ข้ออธิบายภาพ

ควรใส่ภาพประกอบในบทที่ 1 และบทที่ 2

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2.3 การจัดเรียงลำดับเนื้อหา หมายถึง ลำดับขั้นตอนในการเสนอเรื่องราวที่จะสอน เพื่อความเข้าใจง่ายของผู้เรียน หรือ ผู้อ่าน

การจัดเรียงลำดับเนื้อหาให้ตรงตามลำดับที่ผู้เรียนจะเรียน

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.4 รูปแบบในการเขียน หมายถึง ในแต่ละเรื่องที่เขียนระบุความคิดรวบยอดของเรื่องชัดเจนและมีการอธิบายขยายความคิดรวบยอดนั้น ๆ ในลักษณะสามารถสื่อความหมายได้ดีพอสมควร อาจมีภาพ แผนภูมิ ตาราง ฯลฯ ประกอบเพื่อความเข้าใจและให้น่าสนใจ มีความประณีตในการจัดวรรคตอนแต่ละช่องไฟ มีการอ้างอิงแหล่งวิชาการในที่ควรอ้างอิง มีแบบแผนในการเขียนอ้างอิงจัดทำบรรณานุกรมและภาคผนวกไว้อย่างเหมาะสม

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.5 การศึกษาค้นคว้าเพื่อสนับสนุนการเขียนตำรา หมายถึง ปริมาณการศึกษาค้นคว้าตำรา เอกสาร และ/หรือ รายงานการวิจัยที่จะช่วยให้ผู้เรียนมีความรู้ความสามารถ ในรายวิชานั้น หรือให้ผู้อ่านได้มีความรู้และสามารถสืบค้นเพิ่มเติมได้อย่างกว้างขวาง

ขอเพิ่มพจนานุกรมหรือเว็บไซต์ที่เกี่ยวข้อง

- ผลการประเมิน 1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☒ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☐ ดี

2.6 ความเหมาะสมและความถูกต้องในการใช้ภาษา หมายถึง การใช้ภาษาในการเขียนเป็นแบบแผนของภาษาไทย ใช้ศัพท์บัญญัติ ศัพท์ทางเทคนิค รวมทั้งตัวสะกด การันต์ ถูกต้อง

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.7 การเสนอแนวคิดของตนเอง หมายถึง การสอดแทรกความคิด ความเห็นเพิ่มเติมในตอนต่าง ๆ ของเรื่อง อาจจะเป็นข้อวิพากษ์วิจารณ์ คำสรุป ข้อเสนอแนะ การประยุกต์เนื้อหาสาระต่าง ๆ รวมทั้งแนวคิดและความรู้ใหม่ที่เกิดจากการวิเคราะห์และสังเคราะห์

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2.8 คุณค่าของตำรา หมายถึง ประโยชน์ ความสำคัญและความเชื่อถือได้ ในการที่นำตำรา ไปใช้ประกอบการสอน หรือใช้เพื่อสื่อการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม และใช้อ้างอิง

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.9 ความเห็นอื่น ๆ

3. สรุปผลการประเมินตำรา

(โดยจะต้องสอดคล้องกับเกณฑ์การประเมินในข้อ 2.1-2.8)

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะและส่งผลงานให้อ่านใหม่อีกครั้ง
3. ☐ ต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะก่อนเผยแพร่ผลงานครั้งใหม่
4. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

4. สรุปผลประเมิน โปรดสรุปผลการประเมินผลงานตำรา และเสนอความคิดเห็นด้วย

(โปรดดูตัวอย่าง)

ตำราจะมีประโยชน์หรือไม่ขึ้นอยู่กับวิธีการนำเสนอ หากนำเสนอ
 เล็กน้อย 1. เพิ่มภาพประกอบแล้วใช้ตัวอักษรที่อ่านง่ายไปให้คนอ่าน
 2. จัดรูปแบบให้อ่านง่าย เช่น หัวข้อเด่นชัด, ตาราง, ข้อความ
 3. เนื้อหาต้องชัดเจนและน่าสนใจ

ลงชื่อ..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิฯ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นิศาชล ธาแก้วมา)

26 / พ.ค. / ๕๖

หนังสือตอบรับการเป็นผู้ทรงคุณวุฒิเพื่อประเมินตำรา

ตามที่คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
เรียนเชิญข้าพเจ้าเป็นคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิทำหน้าที่ประเมินผลงานทางวิชาการ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง เพื่อการรับรองคุณภาพประเภท งานแต่ง เรียบเรียง
ตำรา หรือหนังสือ ของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์มานิช ขำเจริญ เรื่อง การเพาะเลี้ยงสาหร่าย นั้น ข้าพเจ้า
ได้รับทราบแล้ว และ

- ☒ ยินดีพิจารณาผลงานทางวิชาการ
☐ ไม่สามารถพิจารณาผลงานทางวิชาการได้

ในการนี้ ข้าพเจ้าได้ให้ที่อยู่ซึ่งสามารถติดต่อได้สะดวก (พร้อมหมายเลขโทรศัพท์)
ในโอกาสต่อไป ดังนี้

.....
.....
.....

สาขาอื่นที่สามารถพิจารณาได้.....

.....

ปัจจุบันดำรงตำแหน่งทางวิชาการ ☐ อาจารย์ ☒ ผศ. ☐ รศ. ☐ ศ.

คุณวุฒิทางการศึกษา/สาขาวิชา/สถาบันการศึกษา..... Ph.D. (Aquatic Bioscience)
Tokyo University of Fisheries, มหเทพญี่ปุ่น.....
.....

ลงชื่อ.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ระพีพร เรืองช่วย)

วันที่ 21 / พ.ค. / ๕7.

สำนักงานคณบดี

โทร. ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

โทรสาร ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

แบบประเมินตำรา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

1. ข้อมูลเบื้องต้นของตำรา

ตำรานี้ใช้สำหรับการเรียนการสอนในรายวิชา.....การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ
ระดับ.....ภาคเรียน.....
คณะ/วิทยาลัย.....

2. เกณฑ์สำหรับประเมิน

2.1 ความถูกต้องและความทันสมัยของเนื้อหา หมายถึง เนื้อหาถูกต้องตามหลักวิชาการของศาสตร์ในสาขาวิชานั้น ๆ และความถูกต้องนั้นเป็นที่ยอมรับกันว่าถูกต้องในปัจจุบัน สิ่งที่ควรพิจารณา เช่น ทฤษฎี สูตร กฎการทดลอง ข้อมูล การตีความหมาย หลักฐานการอ้างอิง ศักยภาพ ฯลฯ (ยกเว้นการเสนอ กฎ หรือทฤษฎี แนวคิดใหม่)

- ตระกูลปลา ในหนังสือเนื้อหาที่เกี่ยวข้องกับปลาขนาดเล็ก น้อย
แฟ้มปลาขนาดเล็ก ส่วนปลาขนาดใหญ่ ควรเพิ่มข้อมูลเกี่ยวกับปลาขนาดเล็กด้วย
เช่น เนื้อหาเกี่ยวกับปลาขนาดเล็ก ของตำราเล่มนี้ เนื้อหาเกี่ยวกับปลาขนาดใหญ่ต่าง
ออกไปจากปลาขนาดเล็ก

ผลการประเมิน 1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☐ ดีมาก ☒ ดี
2. ☒ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.2 ความสมบูรณ์และความลึก หมายถึง ความครบถ้วนของเนื้อหาหรือเรื่องราวที่ถือเป็นขอบข่ายของชื่อตำราแต่ละบทแต่ละตอน ประกอบด้วยรายละเอียดซึ่งเป็นหลักวิชาการของศาสตร์ ในสาขาวิชานั้น ๆ มีคำอธิบายและตัวอย่าง เพื่อขยายหลักวิชาอย่างละเอียดถี่ถ้วน ควรมีส่วนประกอบที่สำคัญของตำรา เช่น คำนำ สารบัญ ตาราง บัญชีภาพหรือแผนภูมิประกอบ ฯลฯ ซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่การอ่าน การค้นหาในโอกาสต่อไป

1. เนื้อหาเกี่ยวกับปลาขนาดเล็ก ส่วนปลาขนาดใหญ่ ควรเพิ่มข้อมูลเกี่ยวกับปลาขนาดเล็กด้วย
เช่น เนื้อหาเกี่ยวกับปลาขนาดเล็ก ของตำราเล่มนี้ เนื้อหาเกี่ยวกับปลาขนาดใหญ่ต่าง
ออกไปจากปลาขนาดเล็ก

ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.3 การจัดเรียงลำดับเนื้อหา หมายถึง ลำดับขั้นตอนในการเสนอเรื่องราวที่จะสอน เพื่อความเข้าใจง่ายของผู้เรียน หรือ ผู้อ่าน

เรื่อง อาชีพใหม่ในชนบท:

นอกจากนี้ยังพบว่า ส่วนที่ไม่ได้ขายออกก็มีราคาได้เพิ่มเมื่อเทียบกับ
ผลกำไรการขายในนครขอนแก่น

การที่ผู้รับทราบข้อมูลเกี่ยวกับเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในองค์กร
การที่ผู้รับทราบข้อมูลเกี่ยวกับเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในองค์กร

สารสกัดจากถั่วขาว → ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย
 ความสูงมีประโยชน์สารสกัดจากถั่วขาวเล็ก ๆ สามารถต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ได้เป็นอย่างดี
 หรืออาจเป็นได้เป็นสมุนไพรที่ช่วยป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด

ผลการประเมิน

- ผลการประเมิน
- ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
 - ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
 - ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

□ ดีเด่น

ดีมาก

☒ ১৮

2.4 รูปแบบในการเขียน หมายถึง ในแต่ละเรื่องที่เขียนระบุนิยามความคิดรวบยอดของเรื่องชัดเจนและมีการอธิบายขยายความคิดรวบยอดนั้น ๆ ในลักษณะสามารถสื่อความหมายได้ดีพอสมควร อาจมีภาพ แผนภูมิ ตาราง ฯลฯ ประกอบเพื่อความเข้าใจและให้น่าสนใจ มีความประณีตในการจัดวรรคตอนแต่ละช่องไฟ มีการอ้างอิงแหล่งวิชาการใน ที่ควรอ้างอิง มีแบบแผนในการเขียนอ้างอิงจัดทำบรรณานุกรมและภาคผนวกไว้อย่างเหมาะสม

แผนผังของทางรถไฟ การวัดทางรถไฟของ หน่วยเป็นเมตรของถนน
ทั้งด้านซ้ายและขวาของรางรถไฟ

จากกราฟเส้นแสดงว่าเมื่อเวลาผ่านไป ความดันโลหิตจะสูงขึ้นเรื่อยๆ

เมื่อตัดจนพอเห็นรากงอกออกมาให้รดน้ำบ่อยๆ รดวันละ 2-3 ครั้ง

ผลการประเมิน

- ผลการประเมิน
1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
 2. ☒ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
 3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

2.5 การศึกษาค้นคว้าเพื่อสนับสนุนการเขียนตำรา หมายถึง ปริมาณการศึกษาค้นคว้าตำรา เอกสาร และ/หรือ รายงานการวิจัยที่จะช่วยให้ผู้เรียนมีความรู้ความสามารถ ในรายวิชานั้น หรือให้ผู้อ่านได้มีความรู้และสามารถสืบค้นเพิ่มเติมได้อย่างกว้างขวาง

การเพิ่มเติมเอกสารทางฟร.เทศที่เป็น textbook

หรือทำตัวอย่างให้ ยังไม่ list 18 Fox, 1983 (พ. 87.)

Vonsanak, 1984

ผลการประเมิน

1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☒ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☐ ดี

2.6 ความเหมาะสมและความถูกต้องในการใช้ภาษา หมายถึง การใช้ภาษาในการเขียนเป็นแบบแผนของภาษาไทย ใช้ศัพท์บัญญัติ ศัพท์ทางเทคนิค รวมทั้งตัวสะกด การันต์ ถูกต้อง

- กากยอนหนังสือ

- การใช้ภาษาอังกฤษที่เน้นคำทั่วไป เช่น cell division ควรมี
แปลเป็นภาษาไทย ทพศัพท์ผู้รู้

ผลการประเมิน

1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☒ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.7 การเสนอแนวคิดของตนเอง หมายถึง การสอดแทรกความคิด ความเห็นเพิ่มเติมในตอนต่าง ๆ ของเรื่อง อาจจะเป็นข้อวิพากษ์วิจารณ์ คำสรุป ข้อเสนอแนะ การประยุกต์เนื้อหาสาระต่าง ๆ รวมทั้งแนวคิดและความรู้ใหม่ที่ เกิดจากการวิเคราะห์และสังเคราะห์

เทพาพณภักษ์

ควมมีความรู้ใหม่ได้เพิ่มมากขึ้น จากสิ่งที่ได้เรียนมา

ผลการประเมิน

1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2.8 คุณค่าของตำรา หมายถึง ประโยชน์ ความสำคัญและความเชื่อถือได้ ในการที่นำตำรา ไปใช้ประกอบการสอน หรือใช้เพื่อสื่อการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม และใช้อ้างอิง

มีประโยชน์ ต่อ การเรียน สักครั้งใน การเรียน (ค่าหว่า)

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

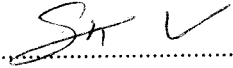
2.9 ความเห็นอื่น ๆ3. สรุปผลการประเมินตำรา

(โดยจะต้องสอดคล้องกับเกณฑ์การประเมินในข้อ 2.1-2.8)

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☐ ดีมาก ☒ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะและส่งผลงานให้อ่านใหม่อีกครั้ง
3. ☐ ต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะก่อนเผยแพร่ผลงานครั้งใหม่
4. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

4. สรุปผลประเมิน โปรดสรุปผลการประเมินผลงานตำรา และเสนอความคิดเห็นด้วย
(โปรดดูตัวอย่าง)

เห็นตำราที่มีเนื้อหาในเชิงการเพาะเลี้ยงด้านราย (ขนาดเล็ก)
ที่มีระบบเชื่อมต่อระบบกับ หาดใหญ่ เพื่อเพิ่มเนื้อหาในหลักสูตร
งานทำในตำราที่ได้ก็ง่าย

ลงชื่อ.....  กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิฯ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ระพีพร เรืองช่วย)

๒๙ / พ.ค. / ๕๗



เอกสารประกอบการสอน

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง พ.ศ. 2556

ปฏิบัติการเคมีทั่วไป

(General Chemistry Laboratory)

02-022-004



ดร. ลักษมี วิทยา

สาขาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

คำนำ

หนังสือปฏิบัติการเคมีเล่มนี้ จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนวิชาปฏิบัติการเคมีทั่วไป (02-022-004) มุ่งเน้นเสริมความรู้ความเข้าใจในทฤษฎีเคมีพื้นฐานในเนื้อหาวิชาเคมีทั่วไป (02-022-003) เช่น เลขนัยสำคัญ ความคลาดเคลื่อนและการเลือกใช้อุปกรณ์ การเปลี่ยนแปลงทางเคมี สมบัติของธาตุและสารประกอบ การเตรียมสารละลายเป็นต้น นอกจากนี้ยังฝึกทักษะในการทดลองให้รู้จักวิธีใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ทำให้มีประสบการณ์และได้เรียนรู้เทคนิคต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลองเพื่อนำไปใช้ในปฏิบัติการเคมีขั้นสูงต่อไป การทดลองที่กำหนดให้ปฏิบัตินั้น ช่วยให้ผู้เรียนเข้าใจและได้ทักษะการทดลองในระดับพื้นฐาน รวมทั้งปราศจากอันตรายต่อนักเรียนปฏิบัติตามคำแนะนำอย่างเคร่งครัด และควรศึกษาคู่มือปฏิบัติการในแต่ละบทอย่างละเอียดก่อนเข้าทำปฏิบัติการทุกครั้ง นอกจากนี้แล้วผลการทดลองในแต่ละบทจะตรงตามที่คาดไว้หรือไม่ก็ตามผู้เรียนต้องรายงานตามผลที่ได้จริงโดยไม่บิดเบือน และไม่จำเป็นต้องแก้ไขให้เหมือนผู้อื่น

หนังสือปฏิบัติการเล่มนี้ได้กล่าวถึงบทนำโดยสังเขปในแต่ละหัวข้อ ก่อนวิธีการทดลองของแต่ละบทปฏิบัติการ โดยมีวัตถุประสงค์ให้นักศึกษาทำความเข้าใจในเนื้อหาที่เกี่ยวข้อง กับการทดลองและสามารถปฏิบัติการทดลองได้อย่างถูกต้อง ในกรณีที่ท่านพบข้อผิดพลาดในหนังสือปฏิบัติการเล่มนี้หรือมีความคิดเห็นเสนอแนะ โปรดแจ้งให้ผู้เขียนทราบด้วย เพื่อผู้เขียนจะได้นำมาปรับปรุงแก้ไขในการพิมพ์ครั้งต่อไป

ขอขอบคุณ โครงการผลิตตำรา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ที่เล็งเห็นประโยชน์ทางวิชาการและจัดพิมพ์เผยแพร่

ลักขมี วิทยา

เมษายน 2556

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	ก
สารบัญ	ข
สารบัญภาพ	ค
สารบัญตาราง	จ
ข้อควรปฏิบัติสำหรับการทำงานในห้องปฏิบัติการเคมี	1
อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเคมี	3
บทที่ 1 เทคนิคการทดลองในห้องปฏิบัติการเคมีด้วยอุปกรณ์พื้นฐาน	6
บทที่ 2 เลขนัยสำคัญ ความคลาดเคลื่อน และการเลือกใช้อุปกรณ์	29
บทที่ 3 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี และผลผลิตร้อยละ	47
บทที่ 4 สมบัติของธาตุและสารประกอบ	55
บทที่ 5 การสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนบางชนิด	63
บทที่ 6 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน	73
บทที่ 7 อัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมี	81
บทที่ 8 สมดุลเคมี	91
บทที่ 9 การหาค่า pH ของสารละลาย อินดิเคเตอร์และปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส	101
บทที่ 10 สารละลายบัฟเฟอร์	113
บทที่ 11 ไฟฟ้าเคมี	121
บทที่ 12 การศึกษาเคมีอินทรีย์เบื้องต้น	131
บรรณานุกรม	151
ภาคผนวก	153
- อุปกรณ์ที่จำเป็นเพื่อความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ	153
- อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลในห้องปฏิบัติการ	155
- ข้อปฏิบัติเมื่อเกิดอุบัติเหตุต่อตัวบุคคล	158
- การจัดเก็บสารเคมี	161
ประวัติผู้เขียน	172

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1.1 การตัดของแข็งออกจากขวด	9
1.2 การรินสารละลายออกจากขวด	10
1.3 ลักษณะชนิดของปิเปต	11
1.4 แสดงการปิเปต (ก) (ข) (ค) และ (ง)	13
1.5 เทคนิคการใช้บิวเรต	14
1.6 จัดเครื่องมือการไทเทรต	15
1.7 แสดงการถ่ายเทสารละลายออกจากของแข็ง	17
1.8 แสดงการพับกระดาษกรองแบบรูปกรวย	18
1.9 แสดงการพับกระดาษกรองแบบจีบ	19
1.10 การกรองโดยอาศัยแรงโน้มถ่วงของโลก	20
1.11 การกรองด้วยสุญญากาศ	20
1.12 การต้มของเหลวในหลอดทดลอง	21
1.13 การคนสารละลายผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน	21
1.14 การเทสารละลาย (centrifugate) แยกออกจากตะกอน	25
2.1 อุปกรณ์วัดปริมาตร	36
2.2 Mohr pipette (ก) และ serological pipette (ข)	37
2.3 การอ่านปริมาตร	38
6.1 การเตรียมสารละลายในขวดวัดปริมาตร	75
11.1 แสดงเซลล์กล้วานิก	123
11.2 แสดงเซลล์อิเล็กโทรไลต์	123
ผ.1 แสดงเครื่องระบายอากาศ	153
ผ.2 ตู้ดูดควัน	153
ผ.3 ตู้เก็บสารละลายไวไฟ	154
ผ.4 อ่างล้างตา และที่ล้างตัวฉุกเฉิน	154
ผ.5 อ่างล้างอุปกรณ์	155
ผ.6 แวนตาใช้ในห้องปฏิบัติการ	156
ผ.7 เสื้อคลุมปฏิบัติการ	156

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
ผ.8	รองเท้าหุ้มส้น	157
ผ.9	ถุงมือ	157
ผ.10	หน้ากากป้องกันไอระเหย	158
ผ.11	ตัวอย่างฉลากสารเคมี	162
ผ.12	สัญลักษณ์แสดงประเภทของสารเคมีและวัตถุอันตรายตามข้อกำหนดของ NFPA	163
ผ.13	สัญลักษณ์แสดงประเภทของสารเคมีและวัตถุอันตรายตามมาตรฐาน UN	166
ผ.14	สัญลักษณ์แสดงประเภทของสารเคมีและวัตถุอันตรายตามระบบ EEC (EU)	170

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	เบอร์ของกระดาศกรองกับลักษณะของตะกอนที่ใช้กรอง	18
2.1	แสดงการแบ่งสเกล ความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์ของการอ่านค่าแต่ละครั้งและข้อมูลอื่น ๆ ของอุปกรณ์ที่ใช้วัดปริมาตรและชั่งน้ำหนักตามมาตรฐาน ASTM จาก Fisher Catalog 1992	39
5.1	ชนิดของสารประกอบโครเมียม	64
5.2	ตัวอย่างของลิแกนด์ชนิดต่าง ๆ	65
9.1	แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง pH กับความเข้มข้นของ $[H^+]$ และ $[OH^-]$	102
9.2	กรด เบส อินดิเคเตอร์แสดงการเปลี่ยนสี	104
10.1	การแตกตัวของ Polyprotic acid กับค่า pKa ของกรด	115
11.1	แสดง Standard Reduction Potential ที่ $25^\circ C$	124
12.1	ประเภทของสารประกอบไฮโดรคาร์บอน	133
12.2	หมู่ฟังก์ชันนัลของสารอนุพันธ์ไฮโดรคาร์บอน	136
ผ.1	รายละเอียดและความหมายของตัวเลขในระบบ NFPA	164
ผ.2	อินดิเคเตอร์บางชนิดสำหรับกรด-เบส	171

ข้อควรปฏิบัติสำหรับการทำงานในห้องปฏิบัติการเคมี

ในการเรียนภาคปฏิบัติการเคมีในห้องปฏิบัติการ บ่อยครั้งผู้ทำการทดลองอาจจะพบกับเครื่องมือใหม่ สถานที่ใหม่ และสารเคมีที่ใหม่ เพื่อให้การทดลองได้ผลดีหรือความผิดพลาดในการทดลองน้อยที่สุดและปลอดภัยต่อผู้ทำการทดลอง ดังนั้นจึงต้องศึกษาข้อปฏิบัติให้ละเอียดดังต่อไปนี้

1. ศึกษาคู่มือปฏิบัติการอย่างละเอียดก่อนเข้าทำปฏิบัติการทุกครั้งเพื่อจะได้ทราบข้อควรระวังหรืออันตรายที่อาจเกิดขึ้นได้ในแต่ละสัปดาห์
2. สวมแว่นตานิรภัย (safety glasses) และเสื้อคลุมปฏิบัติการ ขณะทำการทดลองทุกครั้ง
3. ไม่ควรใส่คอนแทคเลนส์ในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากสารเคมีอาจเข้าถึงเยื่อตาเร็วขึ้นกว่าปกติกรณีสารเคมีกระเด็นเข้าตา
4. ห้ามสวมรองเท้าแตะ (sandals) หรือรองเท้าเปิดด้านหน้า (open-toed shoes) และเปิดส้น (high heeled shoes) ควรสวมรองเท้าส้นเตี้ยที่หุ้มเท้าโดยรอบเพื่อป้องกันไม่ให้สารเคมีหกหรือถูกเท้า
5. ไม่ควรแต่งกายด้วยเสื้อผ้าที่รัดรูปหรือหลวมจนเกินไป และไม่ควรสวมเครื่องประดับ รวมทั้งควรถอดเนคไทออกหรือถอดปลายเนคไทไว้ในเสื้อเชิ้ต
6. ห้ามปล่อยผมยาว โดยไม่รวบผมให้รัดกุม
7. ห้ามรับประทานอาหาร เครื่องดื่ม สูบบุหรี่ ในห้องปฏิบัติการเด็ดขาดเพราะอาจมีสารเคมีปนเปื้อนลงในอาหาร ทำให้สารเคมีเข้าสู่ร่างกายได้
8. ห้ามหยอกล้อ วีนไล่กันในห้องปฏิบัติการ หรือทำการทดลองของตนเองไปพูดคุยกับโต๊ะอื่น ๆ เพราะอาจเกิดอุบัติเหตุจากการละเลยเล็ก ๆ น้อย ๆ เหล่านี้ได้
9. ห้ามใช้ปากดูดปิเปตในการดูดสารละลายทุกชนิด ควรใช้ลูกยางที่เตรียมไว้เพื่อใช้ดูดสาร
10. อย่าเทน้ำลงบนกรดเข้มข้นใด ๆ แต่ควรเทกรดเข้มข้นลงในน้ำอย่างช้า ๆ พร้อมทั้งคนอย่างสม่ำเสมอให้ทั่ว
11. ไม่ใช้จุกแก้วกับขวดบรรจุสารละลายต่าง เพราะจุกจะติดกับขวดจนเปิดไม่ได้
12. ไม่ใช้ลูกยางกับขวดบรรจุตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น แอลกอฮอล์ อะซิโตน
13. ไม่ควรเก็บสารเคมีในบริเวณทางเดิน บันได หรือวางบนพื้น ควรเก็บในพื้นที่จัดไว้โดยเฉพาะ
14. ภาชนะบรรจุสารเคมีทุกขวด ควรมีป้ายฉลากที่ชัดเจน

15. หลีกเลี่ยงการสูดดมไอระเหยของสารเคมี ห้ามทดสอบชนิดของสารเคมีโดยการดมกลิ่นโดยตรงอย่างเด็ดขาด
16. กรณีที่เลือกใช้สารเคมีได้ ควรเลือกใช้สารเคมีที่มีความเป็นพิษน้อยที่สุด ในปริมาณที่น้อยที่สุดเท่าที่พึงกระทำได้
17. หากผิวหนังสัมผัสกับสารเคมี ต้องล้างออกด้วยน้ำประปา หรือน้ำสะอาดทันที ควรล้างอย่างน้อย 15 นาที
18. ในขณะทำงานภายในห้องปฏิบัติการ ไม่ควรปิดล็อกประตูทางเข้าทั้งหมด
19. ไม่อนุญาตให้ทำการทดลองภายในห้องปฏิบัติการโดยลำพัง
20. ห้ามทำการทดลองนอกเหนือจากที่กำหนดไว้ และให้ดำเนินการตามขั้นตอนที่ระบุไว้ในแต่ละการทดลองเท่านั้น เพื่อป้องกันการเกิดอันตรายหรืออุบัติเหตุจากปฏิกิริยารุนแรงที่คาดไม่ถึง
21. การทดลองที่เกี่ยวกับกรดแก่ เบสแก่ หรือเกิดแก๊สที่เป็นพิษ หรือมีกลิ่นระคายเคืองต้องทำในตู้ควัน
22. อุบัติเหตุในห้องปฏิบัติการมักเกิดจากเครื่องแก้วที่แตกหัก ดังนั้นเมื่อใช้เครื่องแก้วต้องทำการทดลองอย่างระมัดระวัง
23. ทั้งสารเคมีและอุปกรณ์ที่แตกหักในแต่ละภาชนะที่ห้องปฏิบัติการจัดไว้ให้เพื่อทางห้องปฏิบัติการจะได้จัดการกำจัดอย่างเหมาะสมต่อไป
24. ควรล้างมือให้สะอาดก่อนออกจากห้องปฏิบัติการเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของสารเคมีตามสิ่งของที่หยิบหรือจับ

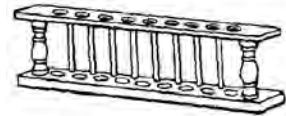
อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเคมี



หลอดหยด
(Dropper)



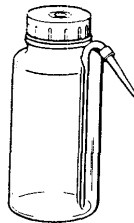
หลอดทดสอบ
(Test tube)



ที่วางหลอดทดสอบ
(Test tube rack)



กระจกนาฬิกา
(Watchglass)



ขวดน้ำกลั่น
(Wash bottle)



คีมจับเบ้า
(Crucible tongs)



กรวยแก้ว
(Glass funnel)



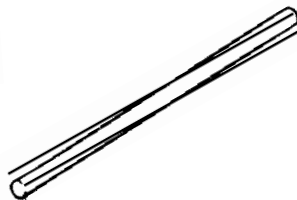
กรวยบุชเนอร์
(Buchner funnel)



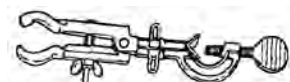
ชามระเหย
(evaporating dish)



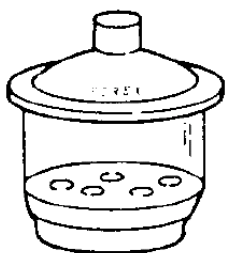
แปรง
(Test tube brush)



แท่งแก้วสำหรับคน (Stirring rod)



ที่ยึดอุปกรณ์
(Utility clamp)



เดซิเคเตอร์ (Desiccator)



ตะไบเหล็ก (File)



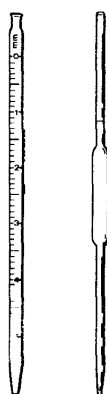
ตัวหนีบหลอดทดสอบ
(Test tube holder)



ห่วงวงแหวน (Ring clamp)



ปิเปต
(Pipet)



บิวเรต
(Buret)



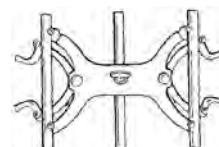
ฐานและที่ตั้ง
(Base and stand)



เทอร์โมมิเตอร์
(Thermometer)



กระบอกตวง
(Graduated cylinder)



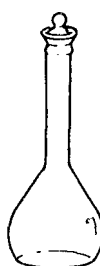
ที่ยึดบิวเรต
(Burette clamp)



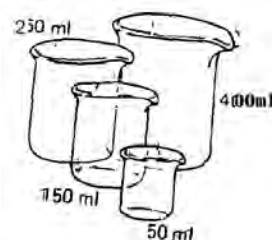
ตะแกรงลวด
(Wire gauze)



ขวดรูปกรวย
(Erlenmeyer flask)



ขวดวัดปริมาตร
(Volumetric flask)



บีกเกอร์ (beaker)



heavy-walled filter flask



pH paper



hot plate

อุปกรณ์การทดลองและลักษณะการใช้งาน

อุปกรณ์การทดลอง	ลักษณะการใช้งาน
1. หลอดหยด (Dropper)	ใช้สำหรับดูดหรือหยดสารละลาย
2. หลอดทดสอบ (Test tube)	ใช้สำหรับใส่สารปริมาณน้อยเพื่อในการทดสอบ
3. ที่วางหลอดทดสอบ (Test tube rack)	ใช้สำหรับวางหลอดทดลองสาร
4. กระชกนาฬิกา (Watch glass)	ใช้สำหรับปิดภาชนะหรือระเหยสารปริมาณน้อย
5. ขวดน้ำกลั่น (Wash bottle)	ใช้สำหรับใส่น้ำกลั่นในการทดลอง
6. คีมจับเบ้า (Crucible tongs)	ใช้สำหรับคีบอุปกรณ์ขณะร้อน
7. กรวยกรอง (Funnel)	ใช้สำหรับกรองสารทั่วไป
8. กรวยบุชเนอร์ (Buchner funnel)	ใช้สำหรับใส่บนขวดรูปกรวยกรองเพื่อกรองสาร
9. ชามระเหย (Evaporating dish)	ใช้สำหรับการระเหยสารละลายที่มีปริมาณมาก
10. แปรง (Brush)	ใช้สำหรับล้างหลอดทดสอบ
11. ที่ยึดอุปกรณ์ (Clamp holder)	ใช้สำหรับยึดอุปกรณ์เข้ากับฐานและที่ตั้ง
12. แท่งแก้ว (Stirring rod)	ใช้คนสารละลายและช่วยในการเทสารละลาย
13. คีมหนีบหลอดทดลอง (Test tube holder)	ใช้สำหรับจับหลอดทดสอบขณะร้อน
14. โถดูดความชื้น (Desiccator)	ใช้บรรจุสารที่จะทำการดูดความชื้น
15. ตะไบเหล็ก (File)	ใช้สำหรับการตัดแท่งแก้ว
16. ห่วงวงแหวน (Ring clamp)	ใช้วางชุดของเครื่องมือสำหรับ
17. ปิเปต (Pipet)	ใช้วัดปริมาตรสารละลายที่ต้องการความละเอียด
18. บิวเรต (Buret)	ใช้ไทเทรตสารละลายเพื่อหาความเข้มข้นสารละลาย
19. ฐานและที่ตั้ง (Stand and base)	ใช้สำหรับติดตั้งชุดของเครื่องมือต่าง ๆ ในการทดลอง
20. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)	ใช้สำหรับวัดอุณหภูมิในการทดลอง
21. กระบอกตวง (Graduated cylinder)	ใช้สำหรับตวงสารละลาย
22. ที่ยึดบิวเรต (Buret clamp)	ใช้สำหรับยึดบิวเรตกับฐานและที่ตั้งขณะไทเทรต
23. แผ่นตะแกรงลวด (Wire gauze)	ใช้รองรับอุปกรณ์เพื่อให้ความร้อนกระจายเฉพาะ
24. ขวดรูปกรวย (Erlenmeyer flask)	ใช้สำหรับบรรจุสารละลายเพื่อใช้ในการทำปฏิกิริยา
25. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)	ใช้สำหรับการเตรียมความเข้มข้นของสารละลาย
26. ปีกเกอร์ (Beaker)	ใช้สำหรับบรรจุสารที่เป็นของแข็งและของเหลว
27. ขวดรูปกรวยกรอง (Filter flask)	ใช้สำหรับกรองสารด้วยแรงสุญญากาศ

บทที่ 1

เทคนิคการทดลองในห้องปฏิบัติการเคมีด้วยอุปกรณ์พื้นฐาน

วัตถุประสงค์

1. ฝึกการเลือกใช้อุปกรณ์การทดลองให้เหมาะสมกับงาน
2. ฝึกเทคนิคการทดลองขั้นพื้นฐานได้ถูกต้อง

บทนำ

การทดลองทางเคมีในห้องปฏิบัติการ จำเป็นต้องมีรูปแบบและวิธีการที่ควรยึดถือและนำไปปฏิบัติ ซึ่งก่อนที่นักศึกษาจะได้ลงมือทำการทดลองในบทปฏิบัติการต่าง ๆ นักศึกษาจะต้องฝึกฝนเทคนิคที่ต้องใช้ในการทดลอง และเรียนรู้วิธีการใช้อุปกรณ์เคมีได้อย่างถูกต้อง เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่ถูกต้องและเชื่อถือได้ หัวข้อที่จะศึกษามีดังนี้

1. เครื่องชั่งและการใช้งาน
2. การใช้สารเคมี
3. การวัดปริมาตรของสารละลาย
4. การไทเทรต
5. การวัดอุณหภูมิ
6. การแยกของผสมระหว่างของแข็งกับของเหลว
7. การต้มของเหลวในหลอดทดลอง
8. การผสมสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน
9. สารเคมีและความเข้มข้นของสารละลาย
10. การใช้เครื่องมือหมุนเหวี่ยง

1. เครื่องชั่งและการใช้งาน

ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารโดยการชั่งน้ำหนัก อุปกรณ์ที่จำเป็นคือ เครื่องชั่งน้ำหนัก สำหรับในปฏิบัติการเคมีทั่วไปนี้ เครื่องชั่งที่นักศึกษาจะได้ใช้ด้วยตัวเอง คือ เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดหยาบ จะเป็นแบบเครื่องชั่งแขนสองแขน หรือเครื่องชั่งสองจาน (Triple Beam Balance) เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด จะเป็นแบบ Single Pan Analytical Balance และเครื่องชั่งไฟฟ้า (Analytical Balance) ซึ่งชนิดหลังในปัจจุบันได้พัฒนาให้ชั่งน้ำหนักที่มีความละเอียดถึงระดับไมโครกรัม (10^{-6} กรัม) การชั่งสารเครื่องชั่งไฟฟ้า ผู้ทดลองต้องศึกษาวิธีการใช้เครื่องชั่งไฟฟ้าแต่ละเครื่องได้

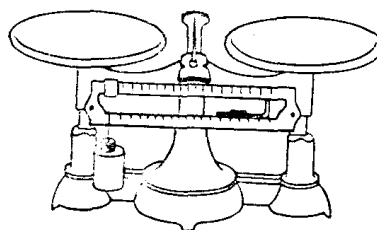
จากคู่มือให้เข้าใจ และปฏิบัติตามวิธีการที่เครื่องชั่งนั้น ๆ กำหนดให้ ส่วนในหัวข้อนี้จะกล่าวถึงข้อปฏิบัติทั่วไป ไปสำหรับการใช้เครื่องชั่ง

1. ตำแหน่งที่วางเครื่องชั่ง ฐานของเครื่องชั่งจะต้องอยู่ในแนวระดับและมั่นคง
2. ก่อนทำการชั่งทุกครั้ง ต้องปรับให้เครื่องชั่งอยู่ในสภาวะสมดุลโดยมีเข็มชี้บอกน้ำหนักอยู่ตรงสเกลบอกตำแหน่งน้ำหนักเป็นศูนย์
3. ห้ามวางสารเคมีลงบนจานของเครื่องชั่งโดยตรง ควรใส่ในภาชนะที่เหมาะสมหรือใช้กระดาษที่สะอาดรองรับ
4. อย่าชั่งน้ำหนักของสาร ขณะที่ยังร้อนอยู่ เพราะจะได้น้ำหนักไม่แน่นอน สารที่จะนำมาชั่งควรมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง
5. อย่าใช้นิ้วมือจับสารหรือภาชนะหรือหยิบหรือปรับค้อนน้ำหนัก
6. อย่าทำให้สารหกเลอะเทอะลงบนเครื่องชั่งเหนือพื้นโต๊ะ ถ้ามีก็ให้รีบทำความสะอาดทันที อย่าปล่อยทิ้งไว้
7. หากเครื่องชั่งขัดข้อง ขอให้นักศึกษารีบรายงานอาจารย์ผู้ควบคุมทราบเพื่อจะได้แก้ไข

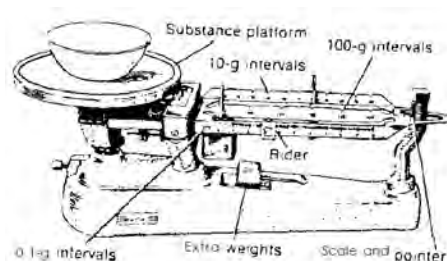
ตัวอย่างเครื่องชั่งที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

1. เครื่องชั่งชนิดหยาบ น้ำหนักที่ชั่งมีความละเอียดถูกต้อง ± 0.01 กรัม นิยมใช้เครื่องชั่ง แบบ Platform Balance มี 3 แบบ คือ

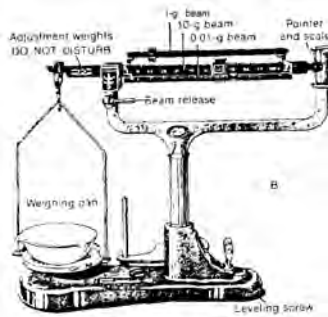
ชนิด Two-pan rough balance



ชนิด Triple beam balance



ชนิด Single-pan rough balance

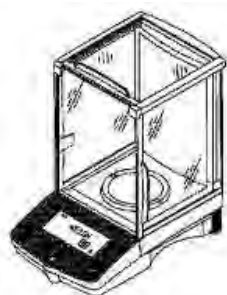


ในการใช้เครื่องชั่งชนิดหยาบจะปฏิบัติดังนี้

1. ในเครื่องชั่งนี้จะมีสเกลบอกน้ำหนัก 2 แถว แถวบนจะบอกเป็นน้ำหนัก 1-10 กรัม ส่วนแถวล่างจะบอกเป็นน้ำหนัก 10-200 กรัม ในสเกลของแถวบนใน 1 กรัมจะแบ่งออกเป็น 10 ช่อง ๆ ละ 0.1 กรัม ชั่งน้ำหนักได้ไม่เกิน 200 กรัม
2. เลื่อนค้อนน้ำหนักทั้งสองแถวมาที่ตำแหน่งศูนย์ เพื่อตรวจสอบความเที่ยงตรงของเข็มชี้ ถ้าเข็มชี้ไม่อยู่กึ่งกลางสเกล ให้หมุนสกรูใต้จานเข้า-ออก จนกระทั่งเข็มชี้อยู่กึ่งกลางสเกล (ต้องตรวจสอบทุกครั้งที่ชั่งสาร)
3. วางสิ่งของที่ต้องการชั่งลงบนจานชั่ง แล้วทำการหาน้ำหนักของสิ่งของโดยเลื่อนค้อนน้ำหนัก จนเข็มชี้อยู่ตรงกลางสเกล อ่านค่าที่ได้จากสเกลของค้อนน้ำหนักทั้งสอง
4. เลื่อนค้อนน้ำหนักกลับไปที่ตำแหน่งศูนย์ แล้วจึงเอาสิ่งของออกจากจานชั่ง
5. เมื่อชั่งสารเรียบร้อยแล้ว ให้ทำความสะอาดเครื่องชั่งทันที

2. เครื่องชั่งชนิดละเอียด (Analytical Balance)

ชนิดที่ใช้ในห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่จะเป็นแบบ Single pan เครื่องชั่งแบบนี้สามารถบอกค่าได้ละเอียดถึง 0.0001 กรัม มีความไวสูงมาก ก่อนที่จะใช้เครื่องชั่งชนิดนี้ ผู้ชั่งจะต้องศึกษาวิธีการใช้อย่างละเอียดจากคู่มือเครื่องชั่งในปฏิบัติการนี้



ในการใช้เครื่องชั่งชนิดละเอียดจะปฏิบัติดังนี้

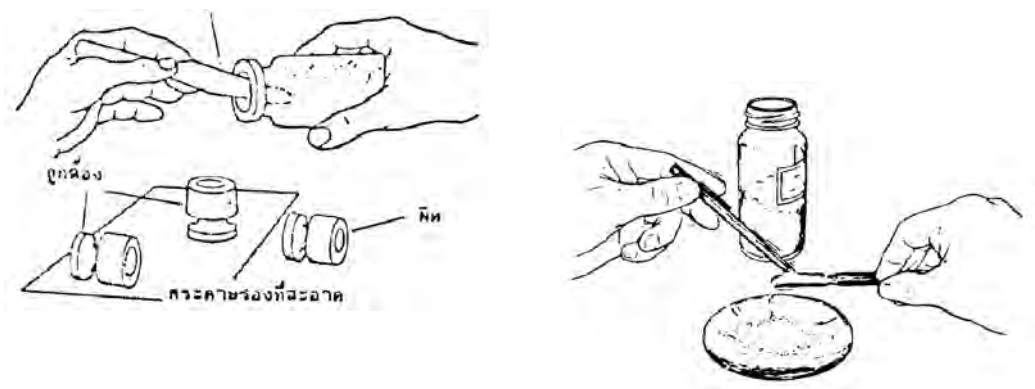
1. ต้องนั่งอยู่ด้านหน้าเครื่องชั่งและอยู่ในตำแหน่งตรงกลาง
2. เครื่องชั่งที่ใช้ต้องวางอยู่บนพื้นที่ได้ระดับ และมีความมั่นคงไม่สั่นสะเทือนง่าย เช่น บนโต๊ะหรือเคาน์เตอร์ที่ทำด้วยคอนกรีตเสริมเหล็ก
3. หากขณะรองรับสารที่จะชั่ง และทำการชั่งสารตามต้องการ
4. เมื่อชั่งสารเรียบร้อยแล้ว ให้ทำความสะอาดเครื่องชั่งทันที

2. การใช้สารเคมี

ในห้องปฏิบัติการเคมี สารเคมีที่นักศึกษาใช้มักจะอยู่ในลักษณะเป็นของเหลวหรือสารละลาย กับของแข็ง

2.1 กรณีที่สารเคมีเป็นของแข็ง

- ก. อย่าให้นิ้วมือจับหรือสัมผัสสารเคมีโดยตรง
- ข. เปิดฝาขวดสารเคมี ให้ห่างฝาขวดบนพื้นโต๊ะที่สะอาด หรือใช้กระดาษขาวรองรับไว้
- ค. ใช้ช้อนตักหรือที่ตักสารที่สะอาดและแห้ง ตักสารเคมีในปริมาณที่พอใช้ออกมาใส่ภาชนะที่ต้องการ
- ง. เมื่อใช้สารเคมีเสร็จแล้ว ให้ปิดฝาขวดสารเคมีทันที โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารที่มีสมบัติดูดความชื้นได้ดี เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

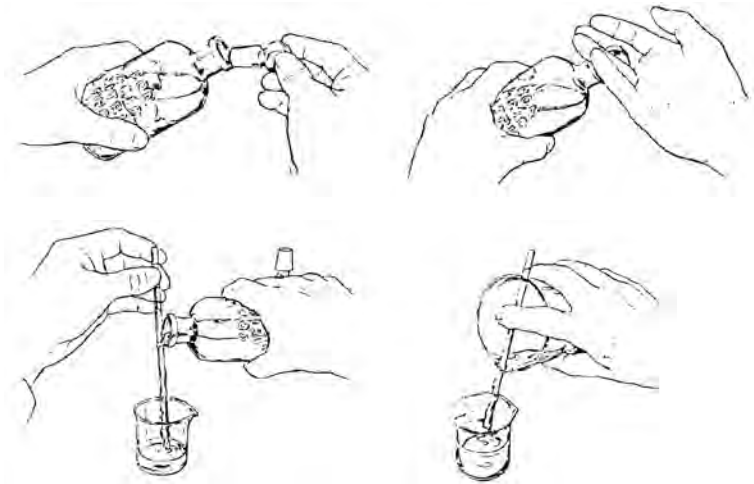


ภาพที่ 1.1 การตักของแข็งออกจากขวด

2.2 กรณีที่สารเคมีเป็นของเหลวหรือสารละลาย

ในกรณีที่ต้องการใช้ในปริมาณที่ไม่มากนัก ให้ใช้หลอดหยดสารละลายที่ทางห้องปฏิบัติการได้จัดเตรียมไว้ให้ ส่วนในกรณีที่ต้องการใช้ในปริมาณมาก ให้ปฏิบัติดังนี้

- ก. เปิดฝาขวดสารเคมี คีบไว้ระหว่างนิ้วมือ หรือวางโดยหงายฝานบนโต๊ะที่สะอาด
- ข. เวลาเทสารให้ใช้แท่งแก้วแตะที่ปลายขวด โดยอีกปลายหนึ่งอยู่ในภาชนะที่รองรับ
- ค. ค่อย ๆ เทสารละลาย ให้ไหลไปตามแท่งแก้วลงสู่ภาชนะ



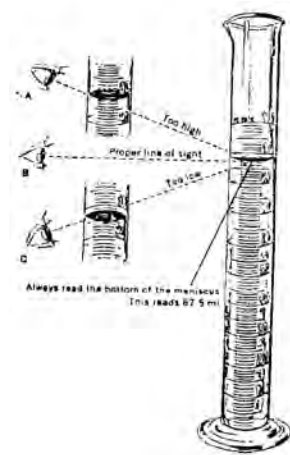
ภาพที่ 1.2 การรินสารละลายออกจากขวด

3. การวัดปริมาตรของสารละลาย

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดปริมาตรของสารละลายในห้องปฏิบัติการมีหลายชนิด มีความละเอียดในการวัดปริมาตรได้แตกต่างกัน การที่จะเลือกใช้อุปกรณ์ชนิดใดนั้น ก็ขึ้นกับวัตถุประสงค์ของผู้ทดลอง ในกรณีที่ต้องการทราบปริมาตรอย่างคร่าว ๆ ก็ไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์วัดที่มีความละเอียดสูง เช่น ต้องการสารละลายประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร นักศึกษาอาจทำได้โดยดูดสารละลายใส่ลงในหลอดทดสอบสูงประมาณ 1 เซนติเมตร ในการวิเคราะห์หาปริมาณโดยการวัดปริมาตร อุปกรณ์ที่ใช้วัดจะต้องมีความละเอียดถูกต้องสูง เช่น กระบอกตวง, ปิเปต, บิวเรต นักศึกษาต้องใช้ให้ถูกต้อง

ก. กระบอกตวง

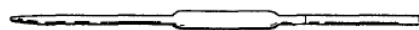
ในการวัดปริมาตรสารละลาย ให้ทำความสะอาดกระบอกตวงก่อนให้เทสารละลายลงในกระบอกตวง จนระดับเว้าล่างสุดของสารละลายตรงกับขีดของสเกล โดยให้ระดับสายตาอยู่ระดับเดียวกับระดับเว้าล่างสุดขณะที่ย่าน



- A - สูงเกินไป
- B - ระดับที่เหมาะสม
- C - ต่ำเกินไป

ข. ปิเปต (Pipet)

ปิเปตที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไปสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดคือ Volumetric Pipette (Transfer Pipette) และ Graduated Pipette (Measuring Pipette) ซึ่งแต่ละแบบอาจจะมีหลายขนาดตามปริมาตรของปิเปต ดังนั้นจึงควรเลือกชนิดของปิเปตที่จะนำมาใช้งาน ชนิดของปิเปตทั้ง 2 แบบมีลักษณะดังภาพที่ 1.3



Volumetric Pipette
(Transfer Pipette)



Graduated Pipette
(Measuring Pipette)

ภาพที่ 1.3 ลักษณะชนิดของปิเปต

ลักษณะของ Volumetric Pipette (Transfer Pipette)

Volumetric Pipette เป็นปิเปตที่มีกระเปาะตรงกลางมีขีดบอกระดับที่ปลายบนสุดเพียงค่าเดียว ลักษณะของกระเปาะจะมีปริมาตรอยู่หลายขนาดสำหรับการวัดปริมาตรสารละลายจะถูกดูดขึ้นมาตามขนาดปริมาตรของปิเปต เนื่องจากมีขีดบอกปริมาตรเพียงค่าเดียว เมื่อปล่อยสารละลายออกจากปิเปตแล้ว ห้ามเป่าสารละลายหยดสุดท้ายที่ตกค้างอยู่ตรงปลายของปิเปต ให้ตะปลายของปิเปตกับข้างภาชนะเพื่อให้สารละลายหยดสุดท้ายที่ตกค้างไหลออกหมด ถ้ายังเหลือสารละลายอยู่ที่ปลายปิเปตให้ทิ้งไป

หมายเหตุ ถ้าปิเปตเป็นแบบ calibrate to blow out ก็สามารถเป่าหยดสุดท้ายลงไปได้

ลักษณะของ Graduated pipet (Measuring Pipette)

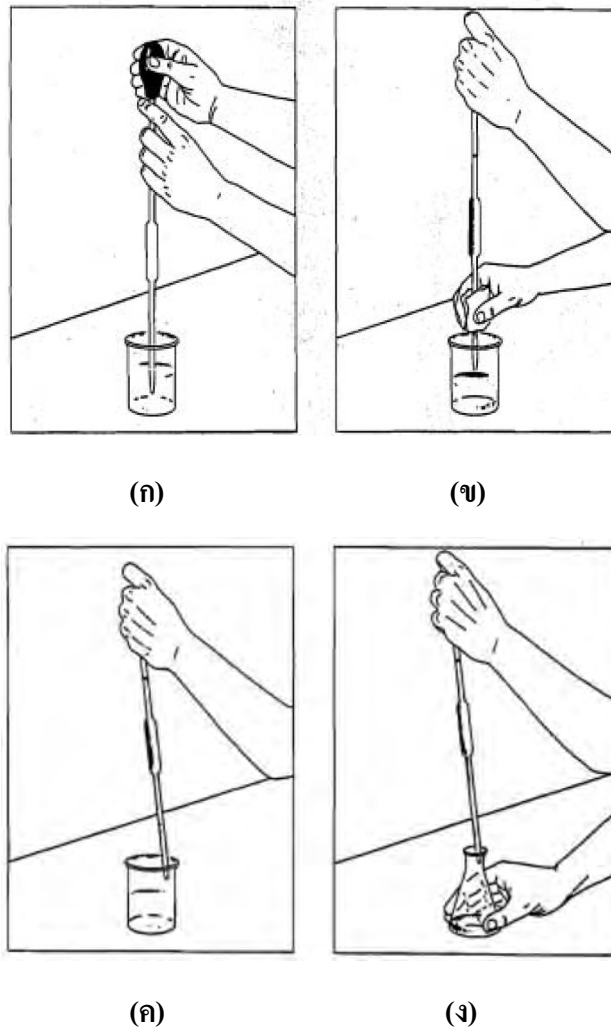
Graduated pipet เป็นปิเปตที่มีขีดบอกความละเอียดของค่าปริมาตรต่าง ๆ ซึ่งมีหลายขนาดตามปริมาตรของการวัดและสามารถใช้แทน volumetric pipet ได้ ส่วนเทคนิคของการปิเปตมีขั้นตอนดังนี้

1. จุ่มปลายล่างของปิเปตลงในสารละลาย ให้ปลายของปิเปตอยู่ต่ำกว่าสารละลายพอประมาณดังภาพที่ 1.4 (ก)
2. ใช้ลูกยางดูดสารละลายขึ้นมาอย่างช้า ๆ เหนือขีดบอกปริมาตรของปิเปต แล้วดึงลูกยางออก ใช้นิ้วชี้อุดปลายบนของปิเปต แล้วค่อย ๆ ปล่อยสารละลายให้ได้ระดับของปริมาตรตามต้องการ ทำการเช็ดด้านนอกตรงปลายด้านล่างของปิเปตด้วยกระดาษที่สะอาดดังภาพที่ 1.4 (ข)
3. จากนั้นนำปิเปตไปแตะข้างภาชนะหรือบีกเกอร์ ให้สารละลายไหลลงในภาชนะที่ได้สารละลายดังภาพ 1.4 (ค)
4. ห้ามเป่าสารละลายหยดสุดท้ายที่ตกค้างอยู่ที่ปลายปิเปต ให้แตะปลายของปิเปตกับข้างภาชนะสักครู่เพื่อให้สารละลายหยดสุดท้ายที่ตกค้างไหลออกหมด ถ้ายังเหลือสารละลายอยู่ที่ปลายปิเปตให้ทิ้งไปดังภาพ 1.4 (ง)

หมายเหตุ ถ้าปิเปตเป็นแบบ calibrate to blow out ก็สามารถเป่าหยดสุดท้ายลงไปได้

ข้อควรระวัง

1. ไม่ควรใช้ปากดูดปิเปตแทนการดูดด้วยลูกยางเพราะสารเคมีอาจไหลเข้าปาก จะทำให้เกิดอันตรายต่อผู้ทดลอง
2. ไม่ควรใช้การเป่าเพื่อไล่สารละลายที่อยู่ในปิเปต
3. ขณะปรับปริมาตรต้องระวังไม่ให้มีฟองอากาศอยู่ภายในเพราะอาจทำให้ปริมาตรที่ต้องการวัดผิดพลาด
4. ขณะดูดต้องจุ่มปลายปิเปตในสารละลายเพราะถ้าปิเปตอยู่เหนือสารละลาย ๆ นั้นจะพุ่งเข้าลูกยางทันที
5. เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองควรล้างทำความสะอาดทันทีด้วยน้ำสะอาดและน้ำกลั่นหรือถ้าต้องการให้ปิเปตสะอาดให้ลงในสารละลายที่เรียกว่า Cleaning Solution ซึ่งเป็นสารละลายที่ได้จากการละลาย $K_2Cr_2O_7$ จำนวน 5 กรัม ในกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 1 ลิตร แล้วจึงนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นสะอาดอีกครั้งหนึ่ง



ภาพที่ 1.4 แสดงการปิเปต (ก) (ข) (ค) และ (ง)

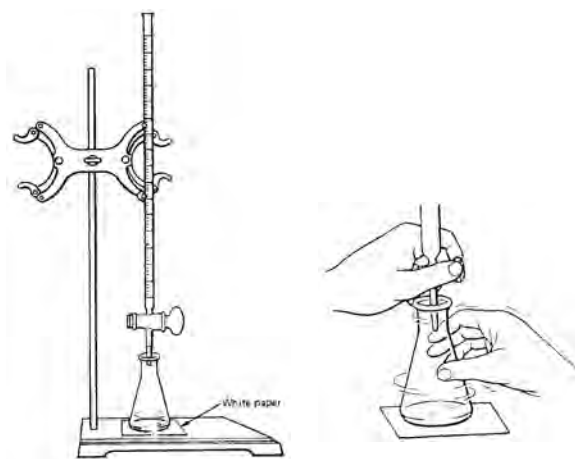
ค. บิวเรต (Burette)

บิวเรตเป็นอุปกรณ์ที่ใช้วัดปริมาตรสารละลายคล้ายกับ volumetric pipet หรือ graduated pipet ก็จะมีขีดบอกปริมาตรต่าง ๆ ไว้ การใช้บิวเรตที่ถูกต้องมีขั้นตอนดังนี้

1. ก่อนใช้ต้องล้างบิวเรตให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น (หลังจากใช้น้ำยาทำความสะอาดและล้างออกด้วยน้ำหลาย ๆ ครั้ง
2. ชะบิวเรตด้วยสารละลายที่ต้องการวัด 3-4 ลูกบาศก์เซนติเมตร 2 –3 ครั้ง
3. เทสารละลายที่ต้องการใช้ทำปฏิกิริยาและต้องการทราบปริมาตรที่แน่นอนใส่ใน

บิวเรต (ต้องปิดก๊อกที่อยู่ด้านปลายของบิวเรตก่อน) โดยให้อยู่เหนือขีดบอกปริมาตร แล้วปรับสารละลายให้มีปริมาตรเท่ากับที่ขีดกำหนดให้พอดีและ **ต้องไม่ให้** มีฟองอากาศเหลืออยู่)

4. ถ้าปลายบิวเรตมีหยดสารละลายติดอยู่ เอาออกได้ด้วยการแตะปลายบิวเรต กับ ปีกเกอร์
5. การใช้สารละลายในบิวเรตในกระบวนการไทเทรตต้องมีวิธีจับดังภาพที่ 1.5
6. เมื่อเลิกใช้ ต้องรีบทำความสะอาดบิวเรตทันที โดยเฉพาะบริเวณที่ควบคุมการไหลของ สารละลาย



ภาพที่ 1.5 เทคนิคการใช้บิวเรต

ข้อควรระวัง

ส่วนประกอบที่เป็นก๊อกปิด – เปิดนั้น ต้องล้างให้สะอาดแล้วทาด้วยวาสลินเมื่อเลิกใช้งาน แล้วเพื่อป้องกันไม่ให้ก๊อกติดแน่นกับส่วนของบิวเรต

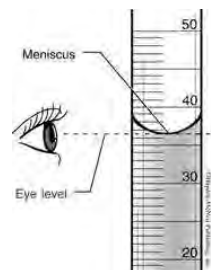
4. การไทเทรต (Titration)

การไทเทรตเป็นการหาความเข้มข้นของสารละลายที่ไม่ทราบความเข้มข้น โดยมาทำการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน (Standard solution) ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนซึ่งบรรจุอยู่ในบิวเรต ส่วนสารละลายที่จะหาความเข้มข้นบรรจุอยู่ในขวดรูปกรวย เทคนิคในการไทเทรตมีขั้นตอนดังนี้

1. ทำความสะอาดบิวเรตให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น และล้างด้วยสารละลายที่จะนำมาใส่ในบิวเรตเล็กน้อยอีก 2-3 ครั้ง แล้วทิ้งไป
2. เติมสารละลายมาตรฐานลงในบิวเรต จนถึงขีดบอกระดับเหนือศูนย์ของสเกลเล็กน้อย ทำการปรับระดับของสารละลายให้อยู่ที่ระดับศูนย์พอดีโดยเปิดก๊อกให้สารละลายไหลออกจากปลายบิวเรต และจะต้องไม่มีฟองอากาศ

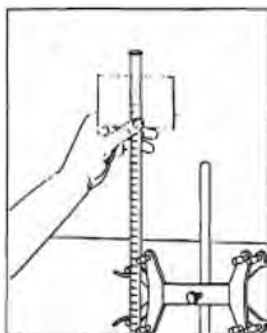
เหลืออยู่ที่ปลาย ถ้าหากมีฟองอากาศอยู่ต้องเปิดก๊อกให้สารละลายไล่อากาศออกจนหมด

3. บีบเปิดสารละลายที่จะหาความเข้มข้น ลงในขวดรูปกรวยที่แห้งและสะอาดให้ได้ปริมาตรที่ต้องการ ให้ทำการจัดเครื่องมือการไทเทรตดังภาพที่ 1.5
4. หยดอินดิเคเตอร์ (Indicator) 2-3 หยด ลงในขวดรูปกรวย
5. ไซสารละลายจากบิวเรตลงในขวดรูปกรวย พร้อมทั้งหมุนขวดเป็นวงกลมเพื่อให้สารละลายผสมเป็นเนื้อเดียว ขณะไทเทรตควรใช้กระดาษสีขาววางใต้ขวดรูปกรวยเพื่อให้เห็นสีที่เปลี่ยนแปลงชัดเจน
6. เมื่อใกล้ถึงจุดยุติของการไทเทรต ค่อย ๆ หยดทีละหยดของสารละลายจากบิวเรตอย่างช้า ๆ จนเกิดสีที่เปลี่ยนแปลงขึ้น ให้ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 วินาที ถ้าหากสีนั้นไม่จางหายไปแสดงว่าถึงจุดยุติของการไทเทรต
7. อ่านปริมาตรที่ใช้ไปในการไทเทรตเพื่อนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายในขวดรูปกรวยได้

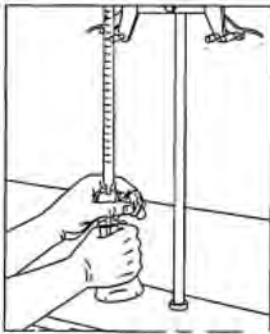


ภาพที่ 1.6 การอ่านปริมาตรจากบิวเรต

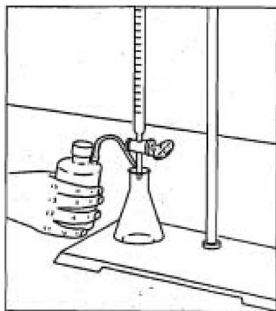
เทคนิคของการไทเทรต



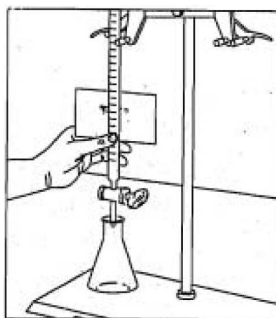
1. ทำการจดปริมาตรของสารละลายเริ่มต้น



2. ใช้มือซ้ายจับก๊อกแล้วค่อย ๆ ปลดยสารละลายออกจากบิวเรต พร้อมหมุนขวครูปกรวยด้วยมือ



3. ล้างผนังด้านในของขวครูปกรวยในระหว่างการไทเทรตเมื่อใกล้จุดยุติการไทเทรต



4. ที่จุดยุติการไทเทรตอ่านปริมาตรจากบิวเรตครั้งสุดท้าย

5. การวัดอุณหภูมิ

โดยปกติจะใช้เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิ นิยมใช้ในหน่วยของศาเซลเซียส ในการใช้เทอร์โมมิเตอร์ เพื่อวัดอุณหภูมิของสารควรปฏิบัติดังนี้

1. ทำการเช็คว่า ตัวชี้บอก (อาจจะเป็นปรอท, แอลกอฮอล์ผสมสี) ต่อเนื่องเป็นลำเดียวกันตลอดหรือไม่ โดยการสลับเบา ๆ แล้วดู ถ้าไม่ต่อเนื่อง มีการขาดตอนเป็นช่วง ๆ แสดงว่าใช้ไม่ได้ นักศึกษานำไปเปลี่ยนกับเจ้าหน้าที่
2. เนื่องจากว่าสเกลบนเทอร์โมมิเตอร์อ่านลำบาก นักศึกษาสามารถทำให้อ่านง่ายขึ้น โดยการเอาดินสอสีเขียนแก้วหรือสีเมจิกดูตามสเกลให้ทั่ว แล้วใช้ผ้าที่สะอาดเช็ดออก สีบางส่วนจะไปอยู่ในร่องของจีบออกสเกล ทำให้อ่านได้ง่ายขึ้น

3. เมื่อต้องการวัดอุณหภูมิของสารละลาย ควรนำเทอร์โมมิเตอร์ไปจุ่มในสารละลายที่ต้องการจะวัด โดยให้ส่วนที่เป็นกระเปาะอยู่ในสารละลาย ประมาณ 1-2 นาที แล้วจึงอ่านอุณหภูมิจากสเกล
4. เมื่อเลิกใช้แล้ว ควรล้างเทอร์โมมิเตอร์ให้สะอาด และเช็ดให้แห้ง เก็บลงในกล่อง นำไปคืนเจ้าหน้าที่ทันที

6. การแยกของผสมระหว่างของแข็งกับของเหลว

ในการแยกของผสมระหว่างของแข็งกับของเหลว สามารถทำได้หลายวิธีด้วยกัน ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับลักษณะ ขนาดของของแข็งในของผสม ทำได้ดังนี้

1. การริน (Decantation) ในกรณีที่ของแข็งมีขนาดใหญ่และมีน้ำหนักมากผสมอยู่ในของเหลว ให้ตั้งทิ้งไว้ให้ของแข็งตกตะกอนนอนก้นภาชนะ แล้วค่อย ๆ รินเอาของเหลวออก โดยใช้แท่งแก้วช่วย ดังภาพที่ 1.7



ภาพที่ 1.7 แสดงการถ่ายเทสารละลายออกจากของแข็ง

2. การกรอง (Filtration) การกรองเป็นการแยกของแข็งที่ไม่บริสุทธิ์ออกจากของเหลวหรือสารละลาย วิธีการกรองหรือการแยกของแข็งที่ไม่บริสุทธิ์นั้น จะใช้กระดาษกรอง (Filter paper) ซึ่งลักษณะของกระดาษกรองสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 เบอร์ ตามลักษณะของตะกอนที่จะใช้ในการกรอง

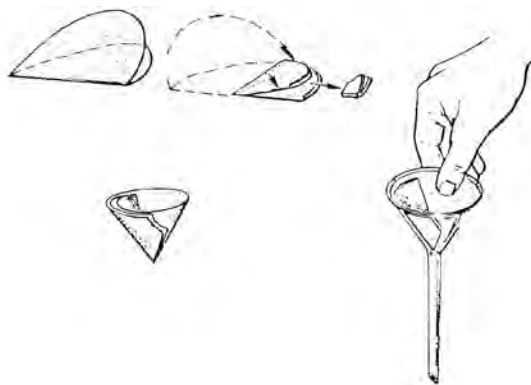
ตารางที่ 1.1 เบอร์ของกระดาศกรองกับลักษณะของตะกอนที่ใช้กรอง

เบอร์ของ กระดาศกรอง	เนื้อของ กระดาศกรอง	ความเร็วในการกรองสาร	ลักษณะของตะกอน
40	ปานกลาง	เร็ว	ตะกอนเป็นผลึก
41	หยาบ	เร็วมาก	ตะกอนคล้ายวุ้น
42	ช้า	ช้า	ตะกอนเป็นผลึกละเอียดมาก

กระดาศกรองที่จะนำมาใช้ในการกรองสารละลาย สามารถแบ่งลักษณะการพบได้เป็น 2 แบบ ดังนี้

1. การพับกระดาศกรองแบบรูปกรวย ใช้สำหรับการกรองโดยทั่ว ๆ ไป ขั้นตอนในการพับกระดาศกรองมีดังนี้

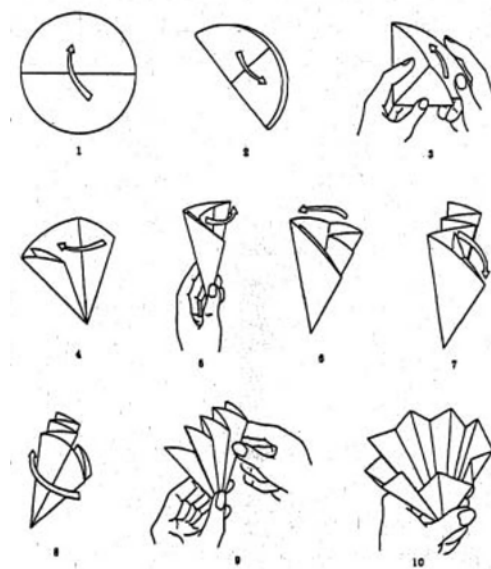
- 1.1 นำกระดาศกรองมาพับครึ่ง ดังภาพที่ 1.8
- 1.2 แล้วทำการพับครึ่งอีกครั้งหนึ่ง จะได้รูป $\frac{1}{4}$ ของวงกลม โดยให้ริมที่อยู่เหมือนกัน เล็กน้อย
- 1.3 คลี่กระดาศกรองออกเป็นรูปกรวย วางลงในกรวยกรอง
- 1.4 ใช้ตัวทำละลายฉีดบนกระดาศกรองให้ทั่ว แล้วใช้มือที่สะอาดกดขอบกระดาศกรองแนบกับกรวยแก้วให้ตลอด



ภาพที่ 1.8 แสดงการพับกระดาศกรองแบบรูปกรวย

2. การพับกระดาษกรองแบบจีบหรือแบบมีร่อง ในการทดลองที่ต้องการความรวดเร็วและใช้เวลาน้อย เช่น ในการกรองสารละลายที่สามารถตกผลึกได้รวดเร็ว การพับกระดาษกรองแบบนี้จะได้เนื้อที่ในการกรองมาก ทำให้สารละลายไหลได้เร็วขึ้น มักจะใช้กรองสารละลายขณะที่ยังร้อน

- 2.1 นำกระดาษกรองมาพับครึ่ง แล้วพับอีกครั้งเป็น $\frac{1}{4}$
- 2.2 พับอีกครั้งให้ได้ $\frac{1}{8}$ และพับอีกครั้งให้ได้ $\frac{1}{16}$ ของวงกลม
- 2.3 ทำการคลี่ออกให้เหลือ $\frac{1}{2}$ แล้วทำการพับตามรอยโดยการพับสลับไป-มา
- 2.4 คลี่ออกจะได้กระดาษกรองแบบจีบแบบมีร่อง
- 2.5 เวลากรอง ก็วางกระดาษกรองลงบนกรวยแก้ว แล้วฉีดด้วยตัวทำละลาย ดังภาพที่ 1.9

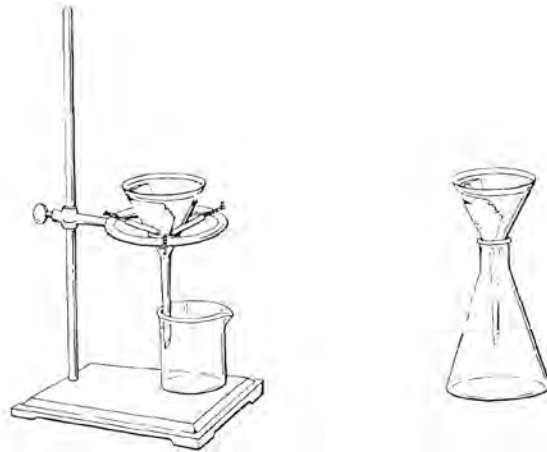


ภาพที่ 1.9 แสดงการพับกระดาษกรองแบบจีบ

วิธีการกรองสาร สามารถแบ่งตามวิธีการกรองออกได้เป็น 2 ลักษณะ ได้แก่

1. การกรองสารด้วยแรงดึงดูดของโลก (Gravity filtration)

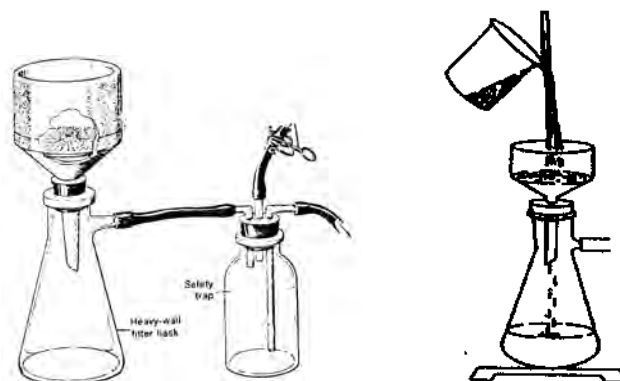
การกรองด้วยแรงดึงดูดของโลก เป็นการกรองตะกอนที่มีลักษณะคล้ายวุ้น อุปกรณ์ที่ใช้ในการกรองประเภทนี้ได้แก่ กรวยกรอง (Funnel) กระดาษกรอง (Filter paper) และที่ยึดกรวยแก้ว (Funnel stand) ในการกรองสารนั้นจะพับกระดาษเป็นรูปกรวยกรองแล้วคลี่กระดาษกรองออกเป็นรูปกรวย จากนั้นวางลงบนกรวยกรอง ใช้น้ำกลั่นฉีดลงบนกระดาษกรองให้ทั่วเพื่อให้แนบติดกับกรวยกรองซึ่งมีลักษณะดังภาพที่ 1.10



ภาพที่ 1.10 การกรองโดยอาศัยแรงโน้มถ่วงของโลก

2. การกรองสารแบบสุญญากาศ (Vacuum filtration)

การกรองลักษณะนี้เหมาะสำหรับการกรองที่ตะกอนมีลักษณะเป็นผลึก เครื่องมือที่ใช้กรองตะกอนจะอาศัยความดันเข้าช่วย เครื่องมือจะประกอบด้วย กรวยบุชเนอร์ (Bucher funnel) ซึ่งที่ก้นกรวยจะมีรูพรุนมากมาย กระดาษกรองแผ่นวงกลมจะถูกลงในก้นของกรวยกรองและนํ้ากลั่นลงบนกระดาษกรองเพื่อให้แนบสนิทกับก้นของกรวยกรอง หลังจากนั้นทำการสวมกรวยกรองให้แน่นกับจุกที่อุดบนขวดรูปกรวยกรอง (Filter flask) ซึ่งแขนของขวดรูปกรวยกรองนี้จะต่อกับอุปกรณ์ที่ทำให้เกิดสุญญากาศได้ เช่น water aspirator แต่ต้องมีขวดต่อเชื่อมระหว่างขวดรูปกรวยกรองกับอุปกรณ์ที่ทำให้เกิดสุญญากาศ เมื่อเปิดเครื่องความดันด้านบนและด้านล่างของกรวยกรองจะต่างกัน แรงดูดสุญญากาศที่เกิดขึ้นจะทำให้การกรองเร็วขึ้น ลักษณะอุปกรณ์การกรองแบบสุญญากาศดังภาพที่ 1.11



ภาพที่ 1.11 การกรองด้วยสุญญากาศ

7. การต้มของเหลวในหลอดทดลอง

1. ของเหลวนั้นที่ต้มไม่ควรเกินครึ่งหลอด (1 ใน 3) ดังภาพที่ 1.12
2. เอียงหลอดที่ต้มเล็กน้อยเพื่อให้ของเหลวในหลอดมีพื้นที่รับความร้อนได้มาก
3. ควรหันปากหลอดในทิศทางที่ไม่มีคน เพราะของเหลวอาจกระเด็นออกขณะเดือด
4. ควรใช้ที่จับหลอดทดลอง ไม่ควรจับด้วยมือโดยตรง



ภาพที่ 1.12 การต้มของเหลวในหลอดทดลอง

8. การผสมสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน

1. การผสมสารละลายในหลอดทดลองอาจใช้วิธีคนด้วยแท่งแก้วคนหรือใช้วิธีเขย่าหลอด โดยการเคาะหลอดทดลองกับฝ่ามือเบา ๆ ไม่สมควรใช้นิ้วหัวแม่มือปิดปากหลอดแล้วผสมโดย คั่ว - หงายหลอด ทั้งนี้เพราะสารเคมีบางชนิด อาจมีอันตรายต่อผิวหนังได้ ดัง

ภาพที่ 1.13

2. การผสมสารละลายในถ้วยรินโดยทั่วไปจะใช้แท่งแก้วคนในการผสมสารละลายหรืออาจใช้วิธีหมุนให้สารละลายหมุนไปทางเดียวกัน (ถ้าปริมาณของสารละลายที่ผสมนั้นมีปริมาณน้อย)
3. การผสมสารละลายในขวดรูปชมพู่ ไม่ใช้วิธีเขย่าแต่ใช้วิธีหมุนขวด การหมุนภาชนะผสมสารให้ใช้มือจับภาชนะแล้วหมุนข้อมือ



ภาพที่ 1.13 การคนสารละลายผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

9. สารเคมีและความเข้มข้นของสารละลาย

สารเคมี ที่ใช้กันอยู่โดยทั่วไป มีอยู่ด้วยกันหลายเกรด ซึ่งจะแบ่งออกตามความบริสุทธิ์ของเนื้อสาร ได้ดังนี้

1. **คอมเมอร์เชียลเกรด (Commercial Grade)** เป็นสารเคมีเกรดต่ำสุด มีความบริสุทธิ์ของเนื้อสารต่ำ มีสิ่งเจือปนสูงและมีปริมาณไม่แน่นอน มักจะใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม
2. **แลบเกรด (Laboratory Grade)** สารเคมีเกรดนี้ มีความบริสุทธิ์ค่อนข้างสูง เพราะได้ผ่านกระบวนการกำจัดมลทินหรือสิ่งเจือปนอย่างเหมาะสมจะใช้ในห้องปฏิบัติการ
3. **ซีพีเกรด (Chemical Pure Grade)** มีความบริสุทธิ์สูงกว่าแลบเกรด ได้ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ตามมาตรฐานของโรงงานผู้ผลิต
4. **รีเอเจนต์หรือแอนาไลส์เกรด (Reagent or Analyzed Grade)** เป็นสารเคมีที่มีความบริสุทธิ์สูงสุด ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์และทดสอบหามลทินโดยละเอียด เหมาะใช้ในงานวิเคราะห์ที่ต้องการความถูกต้องสูง

ความเข้มข้นของสารละลาย

สารละลายคือ สารผสมที่เป็นเนื้อเดียว ดังนั้นสารละลายจึงเป็นสารที่ไม่บริสุทธิ์ซึ่งจะประกอบด้วยตัวทำละลาย (Solvent) และตัวถูกละลาย (Solute) สำหรับการคำนวณถือว่าน้ำเป็นตัวทำละลายเสมอ ความเข้มข้นของสารละลายจะบอกถึงปริมาณเนื้อตัวถูกละลายในสารละลายเป็นสำคัญ ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 วิธีคือ

1. **บอกความเข้มข้นเป็นเปอร์เซ็นต์** จะบอกปริมาตรเนื้อตัวถูกละลายในสารละลาย 100
 - 1.1 **ร้อยละโดยน้ำหนัก** จะบอกปริมาตรเนื้อตัวถูกละลายในสารละลาย 100 กรัม เช่น สารละลาย KNO_3 20 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก หรือ 38 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนัก/น้ำหนัก หมายความว่า สารละลาย 100 กรัมมีเนื้อ KNO_3 20 กรัม
 - 1.2 **ร้อยละโดยปริมาตร** จะบอกเนื้อตัวถูกละลายเป็นปริมาตรในสารละลาย 100 ปริมาตร เช่น สารละลาย HCl 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร หรือ 25 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร/ปริมาตร หมายความว่าสารละลาย 100 mL มีเนื้อ HCl อยู่ 10 mL
 - 1.3 **ร้อยละน้ำหนัก/ปริมาตร** จะบอกเนื้อตัวถูกละลายเป็นน้ำหนักในสารละลาย 100 ปริมาตร เช่น สารละลาย NaCl 0.85 เปอร์เซ็นต์น้ำหนัก/ปริมาตร หมายความว่าสารละลาย 100 mL มีเนื้อ NaCl อยู่ 0.85 กรัม

2. บอกในรูปอัตราส่วนเจือจาง (Dilution Ratio)

ในการบอกความเข้มข้นของกรดหรือเบส อาจจะบอกในลักษณะอัตราส่วนของกรดหรือเบสต่อน้ำ เช่น HCl (1:4) หมายความว่า ในสารละลายนี้จะประกอบด้วยเนื้อกรด HCl 1 หน่วย ปริมาตรและมีน้ำ 4 หน่วยปริมาตร (ในหน่วยเดียวกัน)

3. หน่วยความเข้มข้นที่บอกเป็น โมลาริตี (Molarity) นอร์แมลิตี (Normality) โมแลลิตี (Molality) และฟอร์แมลิตี (Formality)

โมลาริตี (Molarity) วิธีบอกความเข้มข้นของสารละลายเป็น Molar, M หรือ โมลต่อลิตร เป็นหน่วยความเข้มข้นที่บอกให้ทราบว่า สารละลาย 1 ลูกบาศก์เดซิเมตร มีปริมาณตัวถูกละลายอยู่ที่โมล เช่น NaOH 1 M หมายความว่า สารละลาย NaOH 1 ลูกบาศก์เดซิเมตร มีเนื้อ NaOH อยู่ 1 โมลหรือ 40 กรัม

นอร์แมลิตี (Normality) วิธีบอกความเข้มข้นของสารละลายเป็น Normal, N เป็นหน่วยความเข้มข้นที่บอกให้ทราบว่า สารละลาย 1 ลูกบาศก์เดซิเมตร มีปริมาณตัวถูกละลายอยู่ที่กรัมสมมูลย์ เช่น H_2SO_4 1 N หมายความว่า สารละลาย H_2SO_4 1 ลูกบาศก์เดซิเมตร มีเนื้อ H_2SO_4 อยู่ 1 กรัมสมมูลย์ หรือ 49 กรัม

โมแลลิตี (Molality) วิธีบอกความเข้มข้นของสารละลายเป็น Molal, m เป็นหน่วยความเข้มข้นที่บอกให้ทราบว่า ในตัวทำละลาย 1000 กรัม (1 กิโลกรัม) มีตัวถูกละลายอยู่ที่โมล เช่น NaCl 2 m หมายความว่า มี NaCl 2 โมล ละลายอยู่ในตัวทำละลาย 1 กิโลกรัม

ฟอร์แมลิตี (Formality) วิธีบอกความเข้มข้นของสารละลายเป็น Formal, F เป็นหน่วยความเข้มข้นที่บอกให้ทราบว่า ในสารละลาย 1 ลูกบาศก์เดซิเมตร มีตัวถูกละลายอยู่ที่กรัมสูตร เช่น NaCl 1 F หมายความว่า ในสารละลาย 1 ลูกบาศก์เดซิเมตร มี NaCl ละลายอยู่ 1 กรัมสูตร หรือ 58.5 กรัม

การเปลี่ยนความเข้มข้นจาก Normality เป็น Molarity หรือ Molarity เป็น Normality การเปลี่ยนความเข้มข้นนี้จะต้องทราบความสัมพันธ์ของสมมูลและน้ำหนักโมเลกุล เช่น สารละลาย NaOH ความเข้มข้น 2 N จะมีความเข้มข้นกี่ M

$$1 \times \text{สมมูล} = \text{น้ำหนักโมเลกุล}$$

$$1 \text{ gmE} = 1 \text{ กรัมโมเลกุล}$$

$$1 \text{ N} = 1 \text{ M}$$

ดังนั้น สารละลาย NaOH 2 N = 2 M

ตัวอย่าง สารละลาย H_2SO_4 ความเข้มข้น 2 M จะมีความเข้มข้นกี่ N

$$\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ สมมูล} = \text{น้ำหนักโมเลกุล}/2$$

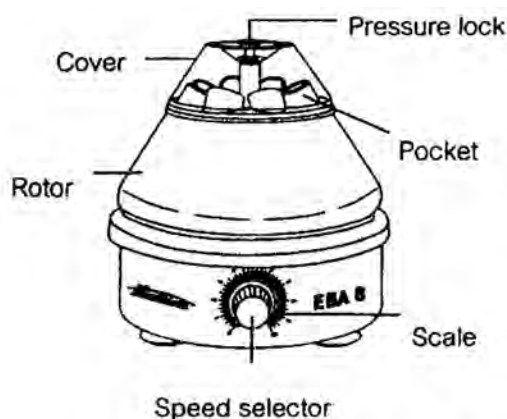
$$2 \text{ สมมูล (gmE)} = 1 \text{ กรัมโมเลกุล}$$

$$2 \text{ N} = 1 \text{ M}$$

ดังนั้นสารละลาย H_2SO_4 ความเข้มข้น 2 M = 4 N จะเห็นได้ว่าตัวเลขที่แสดงความเข้มข้นเป็น M จะต้องน้อยกว่าหรือเท่ากับตัวเลขที่แสดงความเป็น N เท่านี้

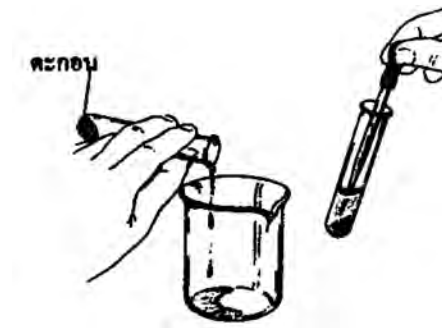
10. การใช้เครื่องหมุนเหวี่ยง

เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) เป็นเครื่องที่ใช้แยกตะกอนออกจากสารละลาย โดยอาศัยแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลางซึ่งเกิดจากการหมุนด้วยความเร็วสูงทำให้ตะกอนอัดกันแน่นที่ก้นหลอด หลักสำคัญที่ต้องจำคือ จะต้องใส่หลอดทดลองขนาดเล็กในเครื่องหมุนเหวี่ยงให้สมดุลกันเสมอ (สารละลายที่บรรจุอยู่ต้องมีปริมาณใกล้เคียงกัน ในตำแหน่งตรงกันข้ามกัน) มิฉะนั้นหลอดอาจจะเหวี่ยงจนแตกได้ ถ้าเกิดกรณีที่หลอดแตกให้นักศึกษาหยุดเครื่อง นำเศษแก้วออกและทำความสะอาดให้เรียบร้อยในช่องใส่หลอดแก้ว (อาจเป็นอลูมิเนียมหรือโพลีเทน) ตัวอย่างเครื่องหมุนเหวี่ยง เช่น เครื่องหมุนเหวี่ยงรุ่น Hettich



จะมีช่องใส่หลอดทดลอง 8 หลอด มีปุ่มหมุนสำหรับเลือกความเร็ว 0-10 เมื่อใส่หลอดทดลองในตำแหน่งสมดุลแล้ว ให้ปิดฝาครอบซึ่งมีล้อกดด้านบน หมุนปุ่มความเร็ว โดยเพิ่มความเร็วอย่างช้า ๆ จนถึงประมาณเลข 6 ปลดปล่อยให้เครื่องทำงานประมาณ 1-2 นาที หยุดเครื่องโดยหมุนปุ่มปรับความเร็วมาที่ 0 รอจนเครื่องหยุดหมุน ห้ามนักศึกษาใช้มือหยุดเครื่องเองโดยเด็ดขาด เมื่อเครื่องหมุนให้ดึงล้อกดด้านบนออก แล้วจึงนำหลอดทดลองออกมาได้

การถ่ายเทสารละลายออกจากหลอดทดลอง จะใช้วิธีการเทออกโดยตรงหรืออาจใช้หลอดหยดดูดสารละลายออกดังภาพที่ 1.14 โดยเอียงหลอดทดลองเล็กน้อย แล้วดูดสารละลายออกมาช้า ๆ



รูปที่ 1.14 การเทสารละลาย (centrifugate) แยกออกจากตะกอน

การทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์

- | | |
|--------------------------------------|-----------------|
| 1. เครื่องชั่ง 2 จาน | 7. กรวยแก้ว |
| 2. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 2 ตำแหน่ง | 8. ปีกเกอร์ |
| 3. สารที่ทราบน้ำหนักแน่นอน | 9. แท่งแก้วคน |
| 4. กระบอกตวง | 10. หลอดหยด |
| 5. ปิเปต | 11. กระจกนาฬิกา |
| 6. กระดาษกรองเบอร์ 40, 41, 42 | |

สารเคมี

- | | |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. สารละลายแบเรียมคลอไรด์ เข้มข้น 1 M | (1 M BaCl ₂) |
| 2. สารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 1 M | (1 M H ₂ SO ₄) |

วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 การชั่ง

ให้นักศึกษารับวัตถุที่มีน้ำหนักแน่นอนจากอาจารย์ผู้ควบคุมแล้วนำไปชั่งด้วยเครื่องชั่ง 2 จาน และเครื่องชั่งไฟฟ้า บันทึกผลการทดลอง แล้วนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ ค่าความผิดพลาดสัมพัทธ์ จากสูตร

$$\% \text{ ความผิดพลาดสัมพัทธ์} = \frac{\text{น้ำหนักที่แท้จริง} - \text{น้ำหนักที่ชั่งได้}}{\text{น้ำหนักที่แท้จริง}} \times 100$$

ตอนที่ 2 การวัดปริมาตร

1. ใช้ Volumetric Pipet ขนาด 5 mL ในการวัดปริมาตรของน้ำสะอาด
2. ถ่ายน้ำจาก Volumetric Pipette ลงในกระบอกตวงขนาด 10 mL อ่านค่าปริมาตรจากกระบอกตวง
1. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างสัมพัทธ์ของกระบอกตวงและ Volumetric Pipette จากสูตร

$$\% \text{ ความผิดพลาดสัมพัทธ์} = \frac{\text{ความแตกต่างที่วัดได้}}{\text{ปริมาตรที่ต้องการ}} \times 100$$

ตอนที่ 3 การผสมสาร

1. ตวง 1 M BaCl₂ จำนวน 5 mL ใส่ในบีกเกอร์
2. ตวง 1 M H₂SO₄ จำนวน 5 mL ลงไปผสมกับสารข้อที่ 1 ผสมสารเข้าด้วยกัน สังเกตการเปลี่ยนแปลง

ตอนที่ 4 การกรองสาร

1. นำสารที่ได้จากการผสมของตอนที่ 3 มากรอง โดยใช้กระดาษกรองของ Whatman เบอร์ 40, 41 และ 42 ตามลำดับ (กรองโดยอาศัยแรงโน้มถ่วงของโลกและนักศึกษาต้องทำการทดลอง 3 ครั้ง) แล้วบันทึกผล เปรียบเทียบเพื่อนำมาเป็นข้อมูลในการเลือกกระดาษกรองเบอร์ที่เหมาะสมในการกรอง

บันทึกผลการทดลอง

รายงานการปฏิบัติการเรื่อง.....

ชื่อผู้ทำการทดลอง

1.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

2.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

3.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

วันที่ทำการทดลอง.....

อาจารย์ผู้ควบคุม

1.....

2.....

วัตถุประสงค์

1.....

2.....

3.....

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 การชั่ง

วัตถุที่ได้รับจากอาจารย์ผู้ควบคุมหนัก.....กรัม

น้ำหนักที่ได้จากการชั่งด้วยเครื่องชั่ง 2 จาน.....กรัม

น้ำหนักที่ได้จากการชั่งด้วยเครื่องชั่ง ไฟฟ้ากรัม

ตอนที่ 2 การวัดปริมาตร

ปริมาตรที่กระบอกตวงวัดได้.....mL

ตอนที่ 3 – 4 การผสมสาร และการกรองสาร

ลักษณะของสารละลายก่อนการกรอง.....

ผลที่ได้จากการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 40.....

.....

ผลที่ได้จากการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41.....

.....

ผลที่ได้จากการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42.....
.....

การคำนวณ

.....
.....
.....
.....
.....

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

.....
.....
.....
.....
.....

บทที่ 2

เลขนัยสำคัญ ความคลาดเคลื่อน และการเลือกใช้อุปกรณ์

จุดประสงค์

1. เพื่อให้ นักศึกษา รู้จักอุปกรณ์ รู้ความหมายของตัวอักษร ตัวเลข เครื่องหมายและอื่น ๆ ที่ปรากฏบนตัวอย่างอุปกรณ์
2. เพื่อจะได้ รู้จักเลือกใช้อุปกรณ์ให้ถูกต้องตามลักษณะและวัตถุประสงค์ของงานแล้วรายงานผลให้น่าเชื่อถือ
3. เพื่อศึกษาถึงเลขนัยสำคัญของอุปกรณ์บางชนิดในห้องปฏิบัติการเคมี
4. เพื่อศึกษาหลักการคำนวณโดยคำนึงถึงเลขนัยสำคัญ

บทนำ

การบันทึกผลการทดลองที่ได้จากการชั่ง ตวง วัด การคำนวณและการรายงานผล จะมีความไม่แน่นอน (uncertainty) ความคลาดเคลื่อน (error) และเลขนัยสำคัญเข้ามาเกี่ยวข้องด้วยเสมอ ดังนั้นจะต้องให้ความสำคัญและเรียนรู้เกี่ยวกับเรื่องเหล่านี้เพื่อจะได้รายงานผลการทดลองต่าง ๆ ให้มีความหมาย และน่าเชื่อถือมากที่สุด

1. ความรู้เกี่ยวกับตัวเลข

1.1 เลขนัยสำคัญ (significant figures) หมายถึง กลุ่มตัวเลขที่แสดงถึงความแม่นยำของการชั่งตวง วัด ประกอบด้วยตัวเลขที่มีความแน่นอน (certainty figure) รวมกับตัวเลขอีกหนึ่งตัวที่แสดงถึงความไม่แน่นอน (certainty figure) เช่นการอ่านกระบอกตวงได้ 20.4 มิลลิลิตร (มีเลขนัยสำคัญ 3 ตัว) เลขตัวสุดท้ายคือ 4 ได้จากการประมาณด้วยสายตา จึงเป็นตัวเลขที่มีค่าไม่แน่นอนแต่นัยสำคัญ

1.1.1 กลุ่มตัวเลขที่มีนัยสำคัญ ตัวเลขที่ได้จากการชั่ง ตวง วัด โดยตรงมีนัยสำคัญทุกตัว เลข 0 ในกลุ่มตัวเลขอาจจะมีหรือไม่มีนัยสำคัญก็ได้ ขึ้นอยู่กับตำแหน่งของเลข 0 ในกลุ่มตัวเลขนั้น ๆ เช่น

0.425	มีเลขนัยสำคัญ 3 ตัว
0.0425	มีเลขนัยสำคัญ 3 ตัว
0.1436	มีเลขนัยสำคัญ 4 ตัว

40.02	มีเลขนัยสำคัญ 4 ตัว
6000	มีเลขนัยสำคัญ 1 ตัว หรือ 4 ตัวก็ได้ ขึ้นกับที่มาของตัวเลข

จากตัวอย่างจะเห็นว่า 0 ที่อยู่หลังจำนวนเต็มอาจจะไม่มีนัยสำคัญ แต่ถ้าได้จากการชั่ง ตวง วัดจริงจะมีนัยสำคัญ ดังนั้นเพื่อไม่ให้เกิดความสับสนจึงควรเขียนแสดงให้เห็นถึงความมีนัยสำคัญของเลข 0 หลังเลขจำนวนเต็ม ดังนี้

2×10^3	มีเลขนัยสำคัญ 1 ตัว	
2.0×10^3	มีเลขนัยสำคัญ 2 ตัว	
2.00×10^3	มีเลขนัยสำคัญ 3 ตัว	
0.425	ถ้าเขียนเป็น 4.25×10^{-1}	มีเลขนัยสำคัญ 3 ตัว
0.0425	ถ้าเขียนเป็น 4.25×10^{-2}	มีเลขนัยสำคัญ 3 ตัว

สรุปได้ว่าการบอกตัวเลขนัยสำคัญ โดยเขียนเป็นเลขยกกำลังจะทำให้ความสับสนกับเลข 0 หดไป

1.1.2 เลขนัยสำคัญของผลลัพธ์ที่ได้จากการคำนวณ ผลลัพธ์ที่ได้จากการบวก ลบ คูณ หาร จากเครื่องคิดเลข จะมีตัวเลขมากตำแหน่ง โดยที่ตำแหน่งหลัง ๆ จะไม่มีนัยสำคัญ แต่การรายงานผลต้องรายงานเฉพาะตัวเลขที่มีนัยสำคัญเท่านั้น จึงต้องนำความรู้เรื่องการปัดตัวเลขมาใช้ ด้วย รายละเอียดมีดังต่อไปนี้

ก. การบวก ลบ ผลลัพธ์จะต้องมีจำนวนตัวเลขหลังจุดทศนิยม เท่ากับจำนวนตัวเลขหลังจุดทศนิยมที่น้อยที่สุดที่นำมาคำนวณ หรือค่าความแม่นยำของผลลัพธ์จะสูงกว่ากลุ่มตัวเลขที่มีความแม่นยำน้อยที่สุดที่นำมาบวกลบกันไม่ได้ เช่น

$$4.523 + 102.87 + 54.5428 + 1543.2 + 236.8 = 1941.9358$$

กลุ่มตัวเลขที่มีจุดทศนิยมน้อยที่สุดที่นำมาบวกกันคือ 1543.2 และ 236.8 ดังนั้นผลลัพธ์ที่ได้ คือ 1941.9

ข. การคูณ หาร ผลลัพธ์จะมีเลขนัยสำคัญเท่ากับเลขนัยสำคัญของตัวที่มีค่าน้อยที่สุด ที่นำมาใช้ในการคำนวณนั้น เช่น

$$4.5 \times 25.827 \times 32.45 \div 21.1 = 177.895645$$

กลุ่มตัวเลขที่มีนัยสำคัญน้อยที่สุดที่นำมาคำนวณ คือ 4.5 ดังนั้น ผลลัพธ์ที่ได้คือ 1.8×10^2

ค. การเปลี่ยนหน่วย ไม่ว่าจะเปลี่ยนจากหน่วยใหญ่ให้เป็นหน่วยเล็กหรือจากหน่วยหน่วยเล็กให้เป็นหน่วยใหญ่ ผลลัพธ์จะต้องมีเลขนัยสำคัญเท่ากับกลุ่มตัวเลขเดิมก่อนเปลี่ยนหน่วยนั้น เช่น การเปลี่ยนหน่วยจาก 4.52 (เลขนัยสำคัญ 3 ตัว) ให้เป็นนิ้ว จะได้เท่ากับ 162.72 นิ้ว ($4.52 \text{ หลา} \times 3 \text{ ฟุต/หลา} \times 12 \text{ นิ้ว/ฟุต}$) แต่ผลลัพธ์จะมีเลขนัยสำคัญเกิน 3 ตัวไม่ได้ ฉะนั้นคำตอบที่ถูกต้องคือ 162 นิ้ว

ง. การปัดตัวเลข (rounding off number) เมื่อนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาคำนวณมักจะมี ผลทำให้จำนวนตัวเลขเพิ่ม เพื่อให้ผลลัพธ์มีจำนวนเลขนัยสำคัญที่ถูกต้อง จึงมี ความจำเป็นที่จะต้องปัดตัวเลขส่วนเกินที่ไม่มีนัยสำคัญออกไปบ้าง โดยมีหลักเกณฑ์ดังนี้

1. ถ้าตัวเลขถัดไปจากตัวเลขที่สนใจมากกว่า 5 ให้ปัดอีก 1 ตำแหน่ง
39.366 เป็น 39.37
2. ถ้าตัวเลขถัดไปจากตัวเลขที่สนใจน้อยกว่า 5 ให้ปัดทิ้ง
39.334 เป็น 39.33
3. ถ้าตัวเลขถัดไปจากตัวเลขที่สนใจเท่ากับ 5 ให้ตัดเลข 5 ทิ้งไป ถ้าตัวเลขหน้า 5 เป็นเลขคู่
39.345 เป็น 39.34
แต่ถ้าตัวเลขหน้า 5 เป็นเลขคี่ให้ปัดขึ้นอีก 1 ตำแหน่ง
39.335 เป็น 39.34
4. ถ้ามีเลขอื่นที่ไม่ใช่เลข 0 มาต่อท้ายเลข 5 ไม่ว่าจะหน้าเลข 5 จะเป็นเลขคี่หรือเลขคู่ให้ปัดขึ้นเสมอ เช่น
39.352 เป็น 39.4
39.456 เป็น 39.5

1.2 ความถูกต้อง (accuracy) และความแม่นยำ (precision)

1.2.1 ความถูกต้อง (accuracy)

ความถูกต้องของผลการทดลองหมายถึง ความแตกต่างระหว่างค่าจริง (true value) กับค่าที่ได้จากการทดลอง (measured value) ซึ่งได้จากอุปกรณ์ที่ใช้ เช่น ในการวัดอุณหภูมิจากเทอร์โมมิเตอร์ 2 อัน อันแรกวัดได้ละเอียด 0.1°C และอันที่สองวัดได้ละเอียด 0.01°C ถ้านำเทอร์โมมิเตอร์ทั้งสองอันนี้มาวัดอุณหภูมิของน้ำในบีกเกอร์เดียวกัน ซึ่งวัดได้ 25.1°C (มีเลขนัยสำคัญ 3 ตัว) และ 25.18°C (มีเลขนัยสำคัญ 4 ตัว) จะเห็นว่าการอ่านอุณหภูมิของน้ำในบีกเกอร์เดียวกัน ถ้าใช้อุปกรณ์ที่วัดละเอียดมากกว่า จะได้ผลถูกต้องดีกว่า

อย่างไรก็ตามผลการวัดที่ถูกต้อง ยังขึ้นอยู่กับมาตรฐานของเครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่ใช้ เช่น ถ้าเทอร์โมมิเตอร์ที่ใช้ผ่านการเทียบมาตรฐานของเครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่ใช้เช่น ถ้าเทอร์โมมิเตอร์ที่ใช้ผ่านมาตรฐานผิดไป 1°C ค่าที่อ่านได้จะต่างไปจากค่าจริง 1°C เสมอ

1.2.2 ความแม่นยำ (precision)

ความแม่นยำของการทดลองหมายถึง ผลการทดลองที่ทำซ้ำ ๆ หลายครั้ง ถ้ามีค่าเท่ากันหรือใกล้เคียงกัน แสดงว่าการทดลองนั้นมีความแม่นยำสูง อย่างไรก็ตาม การวัดที่มีความแม่นยำสูงๆ ไม่จำเป็นต้องมีความถูกต้องไปเปรียบเทียบได้กับการยิงเป้า ถ้ายิงลูกที่เดิมตลอดเวลาแต่ไม่ถูกกลางเป้า เรียกว่าการยิงครั้งนั้นว่ามีความแม่นยำสูง แต่ไม่มีความถูกต้อง เป็นต้น

1.3 ความคลาดเคลื่อน (error)

ทุกการทดลองมักจะมีปัจจัยหลายอย่างที่อาจจะทำให้ผลการทดลองมีความถูกต้องน้อยลง ได้แก่ การอ่านสเกลของอุปกรณ์และเครื่องมือ การจดบันทึก การคำนวณ และอื่นๆ อีกซึ่งทำให้ผลการทดลองที่ได้ต่างไปจากค่าจริงคือ ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อน ซึ่งจำแนกได้เป็น 2 ชนิดคือ ความคลาดเคลื่อนที่สามารถหลีกเลี่ยงหรือตรวจสอบได้ (determinate error หรือ systematic error) และไม่สามารถตรวจสอบได้ (indeterminate error หรือ random error)

1.3.1 ความคลาดเคลื่อนที่สามารถหลีกเลี่ยงหรือตรวจสอบได้ เป็นความคลาดเคลื่อนที่มีสาเหตุที่แน่นอน สามารถวัดและทราบค่าได้โดยทราบสาเหตุที่มาของความคลาดเคลื่อน ซึ่งแบ่งย่อยได้เป็น 4 ชนิดคือ

1.3.1.1 ความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากเครื่องมือ ได้แก่เครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง หรือเครื่องแก้ว ซึ่งสิ่งเหล่านี้ควรใช้ให้ถูกต้องตามแบบและได้มาตรฐาน (celebrated)

1.3.1.2 ความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากผู้ทดลอง เป็นความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากความผิดพลาดของตัวผู้ทำการทดลอง เช่น ความเหนื่อย การละทิ้งการทดลองไปทำอย่างอื่น ความไม่ระวังความสะอาด ไม่มีความละเอียดและความพยายามเพียงพอ ความผิดพลาดเช่นนี้สามารถแก้ไขได้โดยเพียงผู้ทำการทดลองต้องมีความรับผิดชอบ เอาใจใส่ต่อเทคนิคในการทดลอง พร้อมทั้งต้องเข้าใจถึงงานที่ทำ และปรับปรุงวิธีการเพื่อลดความผิดพลาดให้น้อยลง

1.3.1.3 ความคลาดเคลื่อนจากการขาดความสามารถของผู้ทำการทดลอง ได้แก่บุคคลที่ตาบอดสี ซึ่งจะไม่สามารถตัดสินใจเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเมื่อถึงจุดยุติการไทเทรต และความลำเอียงในการเลือกข้อมูลที่คิดว่าเหมาะสม

1.3.1.4 ความคลาดเคลื่อนจากวิธีการทดลอง ความคลาดเคลื่อนชนิดนี้สำคัญที่สุดที่จำเป็นต้องทราบวิธีการ แต่ละวิธีที่จะนำมาใช้นั้นมีข้อจำกัดความคลาดเคลื่อนมากน้อยอย่างไร ลักษณะการผิดพลาดนี้สามารถเกิดได้เสมอ เมื่อมีการทดลองเกิดขึ้นไม่ว่าผู้ทำการทดลองจะมีความชำนาญหรือระมัดระวังต่องานที่ทำเพียงใด เช่น ในการวิเคราะห์การตกตะกอน จำเป็นต้องทำการล้างตะกอนให้สะอาดโดยปราศจากมลทิน แต่ถ้าล้างตะกอนมากเกินไปจะมีผลทำให้ค่าน้ำหนักของตะกอนที่ได้จ่าน้อยเกินความเป็นจริง ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาแต่ละวิธีการและข้อจำกัดของความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ด้วย

1.3.2 ความคลาดเคลื่อนที่ไม่สามารถตรวจสอบได้ เป็นความคลาดเคลื่อนที่ทำให้ผลการทดลองแต่ละครั้งไม่เท่ากัน ถึงแม้ว่าผู้ทำการทดลองได้แก้ไขความคลาดเคลื่อนที่สามารถตรวจสอบได้แล้วก็ตาม เช่น การสังเกตการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ในการไทเทรต ความคลาดเคลื่อนแบบนี้จะทำให้ผลการทดลองที่ได้มีค่ามากกว่าหรือน้อยกว่าค่าจริง ดังนั้นความคลาดเคลื่อนชนิดนี้สามารถกำจัดหรือลดขนาดของความคลาดเคลื่อนได้โดยใช้วิธีทางด้านสถิติเข้าช่วย เช่น ทำการทดลองให้ได้หลาย ๆ ข้อมูลและใช้วิธีทางด้านสถิติในการคำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) ของข้อมูลทั้งหมด ผลการทดลองที่ได้จะมีโอกาสใกล้เคียงหรือเท่ากับค่าจริง ดังนี้

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{N}$$

$\bar{X}$ คือ ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง

X_i คือ ผลการทดลองแต่ละครั้ง

n คือ จำนวนครั้งของการทดลอง

ค่า $\bar{X}$ ที่คำนวณได้ จะเป็นตัวแทนของกลุ่มการทดลองที่นำมารายงาน

ให้เห็นถึงความแม่นยำของผลการทดลองสามารถทำได้หลายวิธี แต่ที่นิยมกันคือ รายงานผลการทดลองเป็นค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (s) หรือ %ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน สัมพัทธ์ (%RSD) โดยคำนวณจากสูตร

$$s = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

$$\% \text{ RSD} = \frac{s}{\bar{X}} \times 100$$

แล้วรายงานผลการทดลองเป็น $\bar{X} \pm s$ หรือ $\bar{X} \pm \% \text{ RSD}$

ตัวอย่าง จงรายงานผลการวิเคราะห์ Fe ในแร่ชนิดหนึ่ง ซึ่งได้ผลดังนี้ คือ 14.28, 13.54, 13.39, 13.92, 14.30% (มีค่า $\bar{X} = 14.14\%$)

วิธีทำ

% Fe	$ X_i - \bar{X} $	$(X_i - \bar{X})^2$
14.28	0.14	0.0196
13.54	0.60	0.3600
13.39	0.15	0.0225
13.92	0.22	0.0484
14.30	0.16	0.0256

$$\begin{aligned}
 \text{จะได้ } \sum (X_i - \bar{X})^2 &= 0.4761 \\
 s &= \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \\
 &= \sqrt{\frac{0.4761}{5-1}} \\
 &= 0.3449 = 0.34
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{และ } \%RSD &= \frac{s}{\bar{X}} \times 100 \\
 &= \frac{0.34}{14.14} \times 100 = 2.439 = 2.44
 \end{aligned}$$

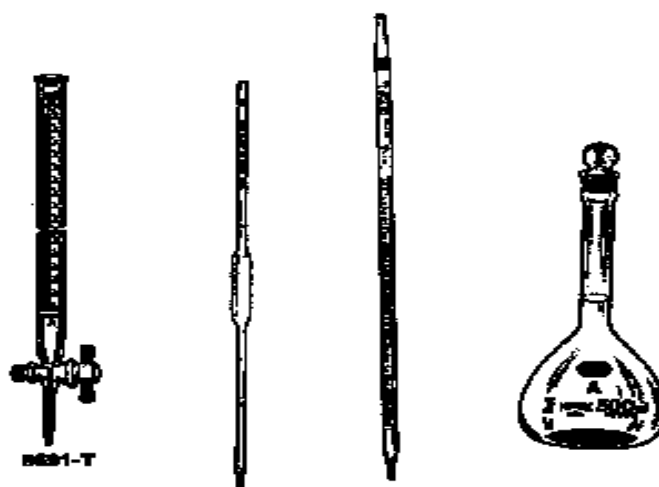
ดังนั้นผลการวิเคราะห์ % Fe = 14.14 ± 0.34 หรือ 14.14 ± 2.44

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการชั่ง ตวง วัด

จุดมุ่งหมายที่สำคัญอีกประการหนึ่งของการทดลองเรื่องนี้ก็เพื่อให้นักศึกษาได้เรียนรู้เกี่ยวกับชนิดของอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเคมี โดยเฉพาะที่ใช้ในการชั่ง ตวง วัด เพื่อจะได้รู้จักเลือกใช้ให้ถูกต้องตามลักษณะและวัตถุประสงค์ของงาน เช่น ในการวัดปริมาตร บางครั้งต้องการทราบปริมาตรเพียงคร่าว ๆ แต่บางครั้งต้องการทราบปริมาตรอย่างละเอียด และอุปกรณ์ที่ใช้ก็มีหลายประเภทหลายระดับให้เลือก การเลือกใช้นอกจากจะสนใจความละเอียดของสเกลแล้วยังต้องพิจารณาถึงความถูกต้อง และความแม่นยำของอุปกรณ์นั้น ๆ ด้วย

2.1 เครื่องชั่ง เครื่องชั่งที่ใช้มี 2 แบบ คือ แบบที่ใช้หลักกลศาสตร์ อาจจะมี 1-2 จาน (pan) ส่วนคานน้ำหนัก (beam) มีตั้งแต่ 1 คานขึ้นไป และเครื่องชั่งแบบอิเล็กทรอนิกส์จะเป็นแบบ top loader เครื่องชั่งทั้ง 2 แบบ นี้ มีทั้งชนิดที่ใช้ชั่งหยาบ ๆ อ่านจุดทศนิยมได้ 2-3 ตำแหน่ง และชนิดละเอียด อ่านจุดทศนิยมได้ 4 ตำแหน่งขึ้นไป จึงใช้ให้ถูกต้องวัตถุประสงค์ เช่น ถ้าจะเตรียมสารละลาย KI 5% ควรใช้เครื่องชั่งชนิดหยาบ แต่ถ้าจะชั่ง As_2O_3 เพื่อนำไปทำสารละลายมาตรฐาน จะต้องใช้เครื่องชั่งชนิดละเอียด อย่างน้อยต้องอ่านจุดทศนิยมได้ถึง 4 ตำแหน่ง

2.2 อุปกรณ์วัดปริมาตร อุปกรณ์วัดปริมาตรมี 4 ชนิด คือ กระจบองดวง ปิเปต บิวเรต และ ขวดวัดปริมาตร สำหรับวัสดุที่ทำอาจจะเป็นแก้ว พลาสติกหรืออื่น ๆ ปัจจุบันอุปกรณ์หลายชนิด เช่น ขวดรูปกรวย ขวดสำหรับกรอง จะมีสเกลตัวเลขบอกปริมาตรทางด้านข้างทั้งนี้เพื่อความสะดวกในการกะประมาณสารละลายอย่างคร่าว ๆ แต่ไม่ถือว่าเป็นอุปกรณ์วัดปริมาตร เมื่อสังเกตภาพที่ 2.1 จะเห็นข้อมูลที่มีผลต่อคุณภาพของอุปกรณ์นั้น ๆ ได้แก่ ตัวอักษร ตัวเลข เครื่องหมายการค้า แฉบสี สเกล และอื่น ๆ



ภาพที่ 2.1 อุปกรณ์วัดปริมาตร

ตัวอย่างตัวอักษร เช่น Pyrex, Corex, Nalgene (ชื่อบริษัทผู้ผลิต), TD, TC, Class A, Class B TD (calibrated “to deliver”) หมายถึง แบ่งสเกลแบบถ่ายเทสาร ส่วน TC (calibrated “to contain”) หมายถึง แบ่งสเกลแบบบรรจุสาร

Class A, Class B บอกให้ทราบถึงคุณภาพของอุปกรณ์ ซึ่งหมายถึงวัสดุที่ทำและความถูกต้องของการแบ่งสเกล และอื่น ๆ

ส่วนตัวเลข ได้แก่ ตัวเลขที่บอกขนาด อุณหภูมิที่วัดปริมาตรถูกต้องที่สุด เบอร์ของจุกและตัวเลขบอกค่าความคลาดเคลื่อน ($\pm 5\%$, ± 0.02 mL) เป็นต้น

สำหรับปิเปตนอกจากมีตัวเลขบอกขนาดแล้ว อาจจะมีแถบสีบอกขนาดเพิ่มขึ้นอีก แต่ serological pipet ถ้ามีแถบสีซึ่งปัจจุบันมักจะมีสีขาว เพิ่มจากแถบสีที่บอกขนาดและอยู่ถัดออกไปทางปากปิเปต จะเป็นสัญลักษณ์ที่บอกให้ทราบว่าหยดสุดท้ายให้เป่าออก ถึงแม้ว่าจะไม่มีคำว่า blow out ก็ตาม

รายละเอียดของอุปกรณ์และการอ่านปริมาตร

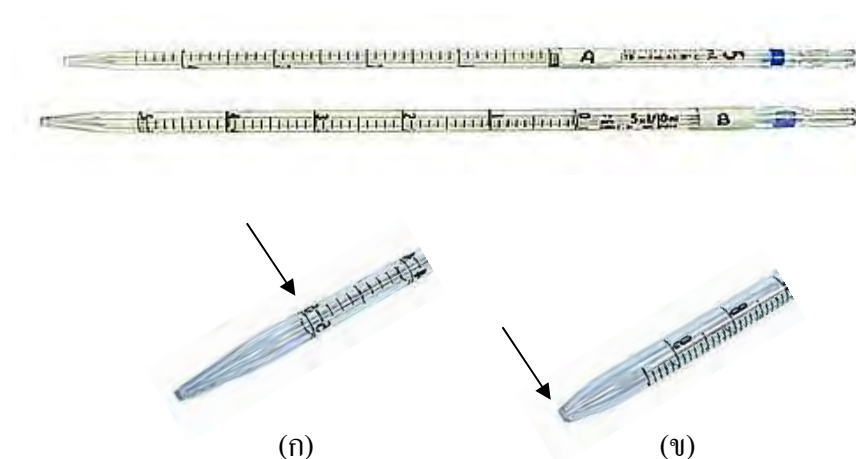
(1) กระจกบอกระดับมีสเกล (Graduated cylinder) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ตรวจสอบสารละลายที่ต้องการทราบปริมาตรไม่ละเอียดนัก จิตปริมาตรมีทั้ง TC และ TD ขนาดที่ใช้มีตั้งแต่ 2, 5...2000 มิลลิลิตร

ตัวเลข 50:0.5 mL IN 20°C ± 0.25 ในภาพที่ 2.1 ป็นตัวเลขที่บอกให้ทราบว่าป็นกระจกบอกระดับขนาด 50 มิลลิลิตร แบ่งสเกลจิตละ 0.5 มิลลิลิตร อ่านปริมาตรได้ถูกต้องที่สุดที่ 20°C โดยมีค่าความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์ของการอ่านแต่ละครั้งเท่ากับ ± 0.25 มิลลิลิตร

(2) ปิเปต (pipet) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ถ่ายเทสารละลายปริมาตรแน่นอนเหมาะสมกับงานที่ต้องการความแม่นยำสูง เช่น ทำปริมาณวิเคราะห์หรือเจือจางสารละลาย การแบ่งสเกลมีทั้งแบบ TD และ TC ตัวอย่างปิเปตที่พบเสมอคือ

ก. transfer pipet (volumetric pipet) ปิเปตชนิดนี้มีหลายขนาดตั้งแต่ 0.5 200 มิลลิลิตร จิตบอกระดับอยู่ทางด้านบนเพียงจิตเดียว ความละเอียดของปริมาตรที่อ่าน จุดทศนิยม 2 ตำแหน่ง

ข. measuring pipet (graduated pipet) ปิเปตชนิดนี้ สเกลบอกระดับอยู่ทางด้านข้าง มี 2 ชนิด ตามลักษณะการแบ่งสเกลและวิธีใช้ คือ Mohr และ serological pipet (ให้สังเกตความแตกต่างของปิเปตทั้ง 2 ชนิดจากภาพที่ 2.2) และมักจะมีตัวเลขบอกทั้งขนาดและความแม่นยำ เช่น 5 IN 1/10 หมายความว่าป็นปิเปตขนาด 5 มิลลิลิตร อ่านได้ละเอียดถึง 1/10 หรือ 0.1 มิลลิลิตร



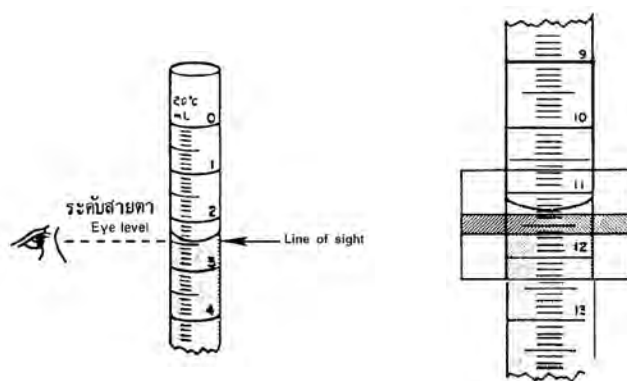
ภาพที่ 2.2 Mohr pipette (ก) และ serological pipette (ข)

(<http://www.nmenv.state.nm.us/swqb/UOCP/WWLabStudyGuide/06.pdf>)

(3) บิวเรต (buret) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้วัดปริมาตรสารละลายในการไทเทรต ได้ละเอียดไม่น้อยกว่าจุดทศนิยม 2 ตำแหน่ง สเกลปริมาตรอยู่ทางด้านข้างเช่นเดียวกับ measuring pipet ก๊อกปิดเปิดอยู่ทางด้านล่าง มีหลายขนาด เช่น 10, 50 และ 100 มิลลิลิตร

(4) ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) เป็นขวดที่ใช้เตรียมสารละลายมาตรฐาน และเจือจางสารละลายให้ได้ความเข้มข้นที่แน่นอน มีหลายขนาด คือ 1, 2, 5, 10,...2000 มิลลิลิตร ขวดอาจจะทำด้วยวัสดุต่าง ๆ เช่น แก้วหรือเทฟลอน จีบอกปริมาตรมีเพียงขีดเดียวที่คอขวด ความละเอียดของการอ่าน จุดทศนิยม 2 ตำแหน่ง

การอ่านปริมาตรสารละลายในอุปกรณ์ที่ใช้วัดปริมาตร ให้อ่านตรงส่วนโค้งต่ำสุดของสารละลายในระดับสายตา สำหรับบิวเรตถ้าใช้กระดาษขาวที่ทาสีดำครึ่งหนึ่งมาทาบทางด้านหลัง จะทำให้การอ่านสะดวก และชัดเจนขึ้น ส่วนสารละลายทึบแสง เช่น I_2 และ $KMnO_4$ จะไม่เห็นส่วนโค้งต่ำสุด จึงต้องอ่านขอบบนแทน



ภาพที่ 2.3 การอ่านปริมาตร

3. ความคลาดเคลื่อนของอุปกรณ์ที่ใช้ในการชั่ง ตวง วัด

ในการทดลองต่าง ๆ เมื่อจะชั่งน้ำหนักหรือวัดปริมาตรต้องคำนึงถึงความคลาดเคลื่อนของอุปกรณ์ที่ใช้ด้วย ปัจจุบันมีหลายบริษัทระบุค่าความคลาดเคลื่อนไว้ที่ตัวอุปกรณ์นั้นเลย แต่ถ้าไม่มีบอกไว้จะทราบได้จาก catalog ที่สั่งซื้ออุปกรณ์นั้น ๆ ให้เลือกใช้ค่าที่ยอมรับได้ตามมาตรฐานสากล เช่น มาตรฐานของประเทศสหรัฐอเมริกา (ASTM) หรือ ของอังกฤษ (BS) ดังตัวอย่างในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงการแบ่งสเกล ความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์ของการอ่านค่าแต่ละครั้งและข้อมูลอื่นๆ ของอุปกรณ์ที่ใช้วัดปริมาตรและชั่งน้ำหนัก ตามมาตรฐาน ASTM จาก The Fisher Catalog 1992

อุปกรณ์	ขนาด (mL, g)	สเกลเล็กที่สุด (mL, g)	ความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์ ของการอ่านแต่ละครั้ง	หมายเหตุ
graduated cylinder	10	0.1	± 0.1	Pyrex TC
	25	0.2	± 0.3	
	50	1	± 0.4	
	100	1	± 0.6	
	250	2	± 1.4	
	500	5	± 2.6	
volumetric pipet	1	-	± 0.006	Class A
	5	-	± 0.01	
	10	-	± 0.02	
	20	-	± 0.03	
	25	-	± 0.03	
	50	-	± 0.05	
	100	-	± 0.08	
Serological pipet	1	1/10	± 0.02	Class A TD/blow out
	2	1/10	± 0.02	
	5	1/10	± 0.04	
	10	1/10	± 0.06	
	25	1/10	± 0.10	
Mohr pipet	1	1/10	± 0.02	Class A TD
	2	1/10	± 0.02	
	5	1/10	± 0.04	
	10	1/10	± 0.06	

ตารางที่ 2.1 (ต่อ) แสดงการแบ่งสเกล ความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์ของการอ่านค่าแต่ละครั้งและข้อมูลอื่น ๆ ของอุปกรณ์ที่ใช้วัดปริมาตรและชั่งน้ำหนัก ตามมาตรฐาน ASTM จาก The Fisher Catalog 1992

อุปกรณ์	ขนาด (mL, g)	สเกลเล็กที่สุด (mL, g)	ความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์ ของการอ่านแต่ละครั้ง	หมายเหตุ
buret	10 25 50 100	5/100 1/10 1/10 2/10	± 0.02 ± 0.03 ± 0.05 ± 0.10	Class A Kimax
Volumetric flask	5 50 100 500 1000		± 0.02 ± 0.05 ± 0.08 ± 0.20 ± 0.30	Corning Kimble
เครื่องชั่งที่ใช้หลัก กลศาสตร์				
2 จาน 1 คาน	2,200	0.1		Fisher Mod.811
2 จาน 2 คาน	2,20	0.1		Fisher Mod.821
จานแขวน, 3 คาน	710	0.1		Fisher Mod.711
จานแขวน, 4 คาน	410	0.01		Fisher Mod.411
electronic top	310	0.01		Mettler AT 300
loading	410	0.001		Mettler AT 400
Electronic	205	0.0001		Mettler AT 200
analytical balance	405	0.0001		Mettler AT 400

นอกจากความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์ของการอ่านค่าแต่ละครั้ง ซึ่งไม่ขึ้นกับปริมาตรสารละลายที่ใช้ ยังมีความคลาดเคลื่อนอีกชนิดหนึ่ง คือ ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ของการอ่านแต่ละครั้งอีกด้วย และค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์จะมากหรือน้อยกว่าขึ้นกับปริมาณสารที่ใช้

ตัวอย่างการคำนวณ

ถ้าต้องการไซสารละลาย 10.00 จากบิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร (ความคลาดเคลื่อนสมบูรณ์ของการอ่านแต่ละครั้งเท่ากับ ± 0.05) ความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์และความคลาดเคลื่อนของการอ่านสุทธิเป็นเท่าใด และถ้าไซสารละลายมา 20.00 มิลลิลิตร ความคลาดเคลื่อนดังกล่าวเหมือนเดิมหรือไม่ อย่างไร

วิธีทำ

ความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์เมื่อไซสารละลาย 10.00 และ 20.00 จากบิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตรจะมีค่าเท่ากันดังนี้

ความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์ของการอ่านสุทธิ = $0.05 + 0.05 = 0.10$ มิลลิลิตร

แต่ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์สุทธิจะแตกต่างกัน ซึ่งคำนวณได้จากสูตร

$$\text{ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์สุทธิ} = \frac{\text{ความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์สุทธิ} \times 100}{\text{ปริมาตรที่ใช้}}$$

ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์สุทธิเมื่อไซสารละลาย 10.00 มิลลิลิตร จากบิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร

$$= \frac{0.10}{10.00} \times 100 = 1.0\%$$

ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์สุทธิเมื่อไซสารละลาย 20.00 มิลลิลิตร จากบิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร

$$= \frac{0.10}{20.00} \times 100 = 0.5\%$$

จากตัวอย่างการคำนวณจะเห็นว่า เมื่อไซสารละลาย 10.00 และ 20.00 มิลลิลิตร จากบิวเรตเดียวกัน ค่าความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์สุทธิจะเท่ากัน แต่ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์สุทธิจะน้อยลงเมื่อปริมาตรเพิ่มขึ้น

สรุปได้ว่า ควรเลือกบิวเรตให้มีขนาดบรรจุใกล้เคียงกับปริมาตรที่ต้องการใช้

อย่างไรก็ตามการเลือกใช้อุปกรณ์ให้ถูกต้องกับลักษณะของงานก็มีความสำคัญมากเช่นเดียวกัน เช่น ถ้าต้องการไซสารละลายประมาณ 10 มิลลิลิตร อุปกรณ์ที่เหมาะสมกับงานคือ กระบอกตวง ไม่ใช่บิวเรตหรือปิเปต

การทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์

- | | |
|---------------|------------------|
| 1. ปีกเกอร์ | 5. บิวเรต |
| 2. ขวดรูปกรวย | 6. ขวดวัดปริมาตร |
| 3. กระบอกตวง | 7. เครื่องชั่ง |
| 4. ปิเปต | |

วิธีการทดลอง

แบ่งเป็น 3 ตอน คือ

1. ศึกษารายละเอียดของอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการบางชนิด
2. อ่านปริมาตร
3. เปรียบเทียบผลหาความหนาแน่นของน้ำ เพื่อนำมาหาข้อสรุปความแม่นยำของอุปกรณ์วัดปริมาตร

การบันทึกและการรายงานผลการทดลองต้องคำนึงถึงเลขนัยสำคัญด้วย

ตอนที่ 1 ศึกษารายละเอียดของอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการบางชนิด

ให้นักศึกษานำสิ่งของที่สังเกตเห็น เช่น ตัวเลขบอกขนาด ตัวอักษร การแบ่งสเกล ชื่อบริษัทผู้ผลิต อักษร TD, TC, A, B อุณหภูมิในการใช้งาน หมายเลขจุดปิดภาชนะและแถบสี และรายละเอียดอื่น ๆ จากอุปกรณ์และเครื่องชั่งที่ห้องปฏิบัติการวางไว้ให้

ตอนที่ 2 อ่านปริมาตร

ให้นักศึกษาอ่านปริมาตรสารละลายจากกระบอกตวงและบิวเรตที่ห้องปฏิบัติการเตรียมไว้ให้ แล้วบันทึกผลโดยคำนึงถึงความแม่นยำ จากนั้นให้นักศึกษารวบรวมข้อมูลของแต่ละคนในกลุ่มของตนมาหาค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (s) แล้วรายงานผลการอ่านปริมาตรที่บอกถึงความแม่นยำของการอ่าน ($\bar{X} \pm s$ หรือ $\bar{X} \pm \%RSD$)

ตอนที่ 3 เปรียบเทียบผลหาความหนาแน่นของน้ำ

3.1 ใ้ น้ำประปาจากบิวเรต 10.00 mL (อ่านปริมาตรจากบิวเรต) ใส่ลงในปิีกเกอร์ที่แห้งขนาด 100-150 mL ซึ่งชั่งน้ำหนักไว้ก่อนแล้ว จากนั้นนำไปชั่งเพื่อหามวลของน้ำด้วยเครื่องชั่ง

เดียวกัน ให้ทำการทดลอง 2-3 ครั้ง โดยครั้งต่อ ๆ ไป ใช้น้ำเพิ่มครั้งละ 10.00 mL ลงในบีกเกอร์ใบเดิมโดยไม่ต้องเทของเก่าออก

3.2 เทน้ำ 10.0 mL ลงในกระบอกตวงที่แห้งขนาด 100 mL (อ่านปริมาตรจากกระบอกตวง) ซึ่งชั่งไว้ก่อนแล้ว จากนั้นนำไปชั่งหามวลของน้ำด้วยเครื่องชั่งเดียวกัน ให้ทำการทดลอง 2-3 ครั้ง โดยที่ครั้งต่อ ๆ ไป ใช้วิธีเติมน้ำเพิ่มครั้งละ 10.0 mL ลงในกระบอกตวงใบเดิม โดยไม่ต้องเทของเก่าออก

จากปริมาตรและมวลของน้ำในข้อ 3.1 และ 3.2 จงคำนวณหาความหนาแน่นของน้ำ จากสูตร $d = m/v$ แล้วสรุปเปรียบเทียบความแม่นยำของอุปกรณ์วัดปริมาตรที่ใช้ในการทดลองนี้ (บิวเรตกับกระบอกตวง)

บันทึกผลการทดลอง

รายงานการปฏิบัติการเรื่อง.....

ชื่อผู้ทำการทดลอง

1.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

2.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

3.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

วันที่ทำการทดลอง.....

อาจารย์ผู้ควบคุม

1.....

2.....

วัตถุประสงค์

1.....

2.....

3.....

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 ศึกษารายละเอียดของอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการบางชนิด

- อุปกรณ์ที่มีสเกล

อุปกรณ์	ขนาด (mL)	ปริมาตร (mL) ต่ำสุด สูงสุด	สเกลเล็กที่สุด (mL)	ความคลาดเคลื่อน ของการอ่าน	เกรดของอุปกรณ์, TD, TC, อุณหภูมิ และอื่น ๆ
บีกเกอร์ ขวดรูปกรวย กระบอกตวง ปิเปต บิวเรต ขวดวัดปริมาตร					

- เครื่องชั่ง

ชนิดของเครื่องชั่ง	มวลสูงสุดที่ชั่งได้ (g) (capacity)	สเกลเล็กที่สุด (g)	รายละเอียดอื่น
double beam (2 คาน) triple beam (3 คาน) quadruple beam (4 คาน)			
top loading			

ตอนที่ 2 อ่านปริมาตร

2.1 ปริมาตรสารละลายในกระบอกตวง ที่นักศึกษาแต่ละกลุ่มอ่านได้

(X_i)
.....mL

ปริมาตรเฉลี่ยของสารละลายในกระบอกตวง ($\bar{X}$)mL

ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (s)

ปริมาตรของสารละลายในกระบอกตวง ($\bar{X} \pm s$)mL

หรือ ($\bar{X} \pm \%RSD$)

คำนวณ

หาค่า $\bar{X}$, s หรือ %RSD

.....
.....
.....

2.2 ปริมาตรสารละลายในปิเปต ที่นักศึกษาแต่ละกลุ่มอ่านได้

(X_i)
.....mL

ปริมาตรเฉลี่ยของสารละลายในกระบอกตวง ($\bar{X}$)mL

ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (s)

ปริมาตรของสารละลายในกระบอกตวง ($\bar{X} \pm s$)mL

หรือ ($\bar{X} \pm \%RSD$)

คำนวณ

หาค่า $\bar{X}$, s หรือ %RSD

.....

.....

.....

ตอนที่ 3 เปรียบเทียบผลหาความหนาแน่นของน้ำ

	บิวเรต (3.1)	กระบอกตวง (3.2)
ปริมาตรเฉลี่ยของน้ำ (mL)		
มวลเฉลี่ยของน้ำ (g)		
ความหนาแน่น (g/mL)		

ในการหาความหนาแน่นของน้ำ นักศึกษาควรเลือกใช้บิวเรตหรือกระบอกตวงในการวัดปริมาตร เพราะเหตุใด (สมมุติ น้ำมีความหนาแน่น 1.00 g/mL)

.....

.....

.....

4. ควรใช้เครื่องชั่ง (จุดทศนิยม 2 หรือ 4 ตำแหน่ง) และอุปกรณ์วัดปริมาตรชนิดใด จึงจะเหมาะสม และถูกวิธีอุปกรณ์ในการเตรียมสารละลายต่อไปนี้

วัตถุประสงค์	เครื่องชั่ง	อุปกรณ์วัดปริมาตร
NaOH 5% w/v		
Na ₂ C ₂ O ₄ 0.1000 M		

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

บทที่ 3

การเปลี่ยนแปลงทางเคมี และผลผลิตร้อยละ

วัตถุประสงค์

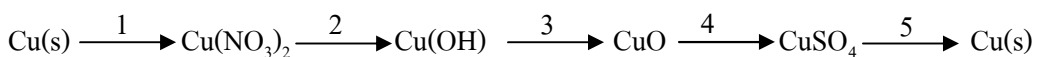
1. เพื่อศึกษาปฏิกิริยาเคมีอย่างง่ายของโลหะทองแดง
2. เพื่อศึกษาเทคนิคเบื้องต้นที่สำคัญบางประการสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น การละลายสารเคมีในตัวทำละลาย การทำให้สารละลายตกตะกอน การแยกตะกอนออกจากสารละลายโดยการริน และการล้างตะกอน เป็นต้น

บทนำ

เคมีเป็นวิทยาศาสตร์สาขาสำคัญสาขาหนึ่ง ซึ่งมีขอบข่ายเนื้อหาวิชากว้างมากทั้งในด้านวิทยาศาสตร์บริสุทธิ์และประยุกต์ ในการศึกษาเบื้องต้นเริ่มด้วยปฏิกิริยาเคมีอย่างง่าย ปฏิกิริยาเคมีเกิดขึ้นจากการนำสารมาผสมกันแล้วเกิดสารประกอบชนิดใหม่ที่มีสมบัติไม่เหมือนสารเดิม เมื่อเกิดปฏิกิริยาเคมีจะพบความเปลี่ยนแปลงในลักษณะต่างๆ แล้วแต่กรณี เช่น มีตะกอนเกิดขึ้น มีความร้อนเพิ่มขึ้นหรือลดลง เป็นต้น

การศึกษาปฏิกิริยาเคมีกระทำได้หลายวิธี เช่น ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักหรือปริมาณของสารที่นำมาทำปฏิกิริยาและผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น พลังงานของปฏิกิริยา สมดุลของปฏิกิริยา

ในการทดลองนี้เป็นการศึกษาปฏิกิริยาเคมีของโลหะทองแดง เริ่มจากการนำทองแดงไปทำปฏิกิริยาเคมีหลายขั้นตอนอย่างต่อเนื่อง และจบลงด้วยการได้โลหะทองแดงกลับคืนมา ดังแสดงได้ด้วยสมการต่อไปนี้



ทองแดงที่ได้กลับคืนมาอาจมีน้ำหนักน้อยกว่าตอนเริ่มต้น เพราะปฏิกิริยาแต่ละขั้นตอนอาจเกิดการสูญเสียสารได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากใช้สารเคมีมาทำปฏิกิริยากับทองแดงในปริมาณมากเกินไป ดังนั้นควรใช้สารในปริมาณตามที่กำหนดให้ การคำนวณปริมาณทองแดงที่ได้กลับคืนมา นิยมคำนวณเป็นร้อยละ ดังนี้

ร้อยละของทองแดงที่ได้กลับคืนมา (percentage recovery) = $\frac{\text{น้ำหนักทองแดงที่ได้กลับคืนมา} \times 100}{\text{น้ำหนักทองแดงเริ่มต้น}}$

การทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์

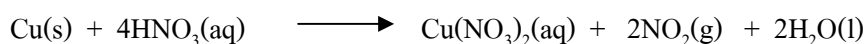
- | | |
|-----------------------------|-------------------------|
| 1. ปีกเกอร์ ขนาด 250 mL | 6. ขวดฉีดน้ำกลั่น |
| 2. กระบอกตวง ขนาด 100 mL | 7. แผ่นร้อน (hot plate) |
| 3. กรวยบุชเนอร์พร้อมขวดกรอง | 8. แท่งแก้วคน |
| 4. ชามระเหย | 9. น้ำแข็ง |
| 5. กระจกกรอง | 10. กระจกलिटมัส |

สารเคมี

- | | |
|--|--|
| 1. โลหะทองแดง | (Cu) |
| 2. สารละลายกรดไนตริก เข้มข้น 8 M | (8 M HNO ₃) |
| 3. สารละลายกรดซัลฟูริก เข้มข้น 1 M และ 3 M | (1M H ₂ SO ₄ , 3M H ₂ SO ₄) |
| 4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 6 M | (6 M NaOH) |
| 5. สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ แบบเข้มข้น | (NH ₄ OH conc.) |
| 6. โซเดียมคาร์บอเนต | (Na ₂ CO ₃) |
| 7. ผงสังกะสี | |
| 8. อะซีโตน | |

วิธีการทดลอง

1. ปฏิกริยาการเปลี่ยนโลหะทองแดงไปเป็นคอปเปอร์(II)ไนเตรต (ทำในตู้ควัน)



บันทึกน้ำหนักของโลหะทองแดงที่ห้องปฏิบัติการเตรียมไว้ให้ลงในสมุดบันทึก แล้วนำทองแดงนี้ใส่ลงในปีกเกอร์ ขนาด 250 ml นำไปทดลองในตู้ควัน ตามขั้นตอนดังนี้

1.1 ใช้กระบอกตวงขนาด 10 mL ตวง 8 M HNO₃ 10 mL แล้วค่อยๆ รินกรดลงในปีกเกอร์ จะสังเกตเห็นควันสีน้ำตาลของก๊าซไนโตรเจนไดออกไซด์ (NO₂) เกิดขึ้น ซึ่งเป็นพิษมาก ระวังอย่าสูดหายใจเข้าไป ให้ใช้มือจับปีกเกอร์และใช้แท่งแก้วคนเพื่อช่วยให้ทองแดงละลาย ถ้าหากทองแดง

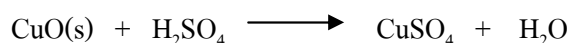
3.2 เมื่อสารละลายในบีกเกอร์เย็นลงแล้ว นำไปกรองแบบลดความดัน โดยรินสารละลายใสตอนบนของตะกอนลงบนกระดาษกรองที่มีอยู่ในกรวยกรอง พยายามอย่าให้ตะกอนตกลงไปจนสารละลายใสเกือบจะหมดแล้ว จึงใช้แท่งแก้วคนตะกอนให้ผสมกับสารละลาย เทลงไปในกรวยกรองให้หมด การรินควรรินให้ตะกอนและสารละลายไหลผ่านไปตามแท่งแก้วลงไปในกรวยกรอง

3.3 สารละลายที่ผ่านกระดาษกรองออกมานั้นจะต้องใส ถ้าสารละลายขุ่นมากอาจจะต้องกรองใหม่ โดยเทสารละลายที่อยู่ในขวดกรองกลับคืนออกมาและกรองใหม่ โดยใช้กระดาษกรองแผ่นใหม่ ส่วนตะกอนที่กรองได้นั้นให้เก็บไว้รวมกับตะกอนที่ได้จากการกรองครั้งที่สอง

3.4 เมื่อกรองเสร็จ ใช้น้ำกลั่นราดลงบนตะกอนให้ทั่ว น้ำจะถูกดูดออกไป ล้างตะกอนประมาณ 2 ครั้ง

4. ปฏิริยาการเปลี่ยนคอปเปอร์(II)ออกไซด์ให้เป็นคอปเปอร์ (II)ซัลเฟต

นำตะกอนทั้งหมดที่กรองได้มาละลายด้วยกรด 1 M H_2SO_4 25 mL หรือมากกว่าอีกเล็กน้อย



วิธีละลายตะกอนทำได้ดังนี้คือ

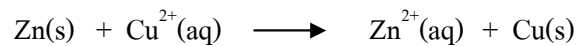
4.1 นำกรด H_2SO_4 ค่อยๆ รินราดลงไปในตะกอนในกระดาษกรองเพื่อละลายตะกอนสีดำของคอปเปอร์(II)ออกไซด์ ตะกอนที่ละลายจะผ่านกระดาษกรองออกสู่บีกเกอร์ (ใบที่ใช้ในการทดลองข้อ 3) ถ้าใช้กรดหมดตามจำนวนที่กำหนดแล้วตะกอนยังละลายไม่หมด ให้ใช้หลอดหยดดูดสารละลายที่อยู่ในบีกเกอร์ออกมาและนำกลับไปละลายตะกอนบนกระดาษกรองอีก จนตะกอนละลายหมด ใช้น้ำกลั่นเล็กน้อยฉีดล้างกระดาษกรองอีกครั้งหนึ่ง กระดาษกรองในตอนนี้จะต้องมีสีขาว ไม่มีตะกอนดำติดอยู่อีก รวมสิ่งกรองทั้งหมดเข้าด้วยกัน สิ่งกรองที่ได้ในตอนนี้จะมีสีฟ้าคือเป็นสารละลายของคอปเปอร์(II)ซัลเฟต ซึ่งอยู่ในรูปของ Hydrated copper (II) ion

5. ปฏิริยาการเปลี่ยนคอปเปอร์(II)ซัลเฟตให้เป็นโลหะทองแดง

นำสารละลายของคอปเปอร์(II)ซัลเฟต ที่ได้จากการทดลองข้อ 4 มาทำการทดลองต่อไปดังนี้

5.1 เตรียมผงสังกะสีประมาณ 1 กรัม ค่อย ๆ เติมผงสังกะสีลงไปทีละน้อยพร้อมกับใช้แท่งแก้วคนสารละลายตลอดเวลา

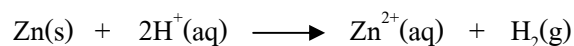
5.2 สังเกตเห็นผงสังกะสีละลายหมดแล้วหรือยัง โดยสังเกตดูฟองแก๊สไฮโดรเจนที่ปุดขึ้นในสารละลาย หากสังกะสีละลายหมดแล้วแต่สารละลายยังคงมีสีอยู่อีก ต้องเติมผงสังกะสีเพิ่มอีกเล็กน้อย ผลสุดท้ายสารละลายจะไม่มีสี เพราะ Cu^{2+} ถูกรีดิวซ์เป็นทองแดงหมด Cu(s) ดังสมการ



ข้อควรระวังในขั้นตอนนี้ คือ อย่าเติมผงสังกะสีมากเกินไป เพราะจะต้องเสียเวลาอย่างมากในการกำจัดผงสังกะสี

5.3 ควรตรวจหา Cu^{2+} ซึ่งอาจหลงเหลืออยู่ในสารละลาย โดยนำหลอดทดลองขนาดเล็กมาบรรจุแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์แบบเข้มข้น จำนวนประมาณ 1 mL และดูดสารละลายที่ต้องการตรวจสอบลงไป 1 mL ถ้าเกิดสีฟ้าแสดงว่ามี Cu^{2+} เพราะไอออนนี้รวมตัวกับแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ได้ไอออนเชิงซ้อน เตตระเอมีนคอปเปอร์(II) ไอออน $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$

5.4 รินสารละลายส่วนบนออกไป อาจมีผงสังกะสีที่เหลืออยู่จากปฏิกิริยา ต้องกำจัดโดยเติมกรด 3 M H_2SO_4 5 mL โดยค่อย ๆ เติมทีละน้อย พร้อมกับคนสารละลาย กรด 3 M H_2SO_4 จะไม่ทำปฏิกิริยากับโลหะทองแดงหรือไม่แรงพอที่จะออกซิไดซ์ทองแดง ซึ่งสังกะสีนั้นสามารถทำปฏิกิริยากับกรดแก่ได้ทุกชนิดและให้แก๊สไฮโดรเจน ดังสมการ



ขณะที่เติมกรด H_2SO_4 นั้นจะมีฟองแก๊สเกิดขึ้น และเมื่อสังกะสีละลายหมดจะไม่มีฟองแก๊สเกิดขึ้นอีก ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์แล้ว

5.5 นำมารองแบบลดความดัน ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง ๆ ละประมาณ 10 mL โดยราดลงบนตะกอนในกรวยบูชเนอร์ ต่อมาใช้อะซิโตน จำนวนประมาณ 5 mL โดยใช้หลอดหยดหยดอะซิโตนลงบนตะกอนให้เปียกชุ่มโดยทั่ว ทั้งไว้สักครู่ เมื่อตะกอนแห้งแล้ว (ใช้ช้อนปลายเบนเขี่ยดูจะร่วน) ถ่ายตะกอนหรือโลหะทองแดงลงในถุงพลาสติกซึ่งชั่งทราบน้ำหนักถ่วงแล้ว นำไปชั่งหาน้ำหนักของทองแดง (อ่านน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง) บันทึกน้ำหนักโลหะทองแดงที่เตรียมได้ เก็บข้อมูลไว้คำนวณเพื่อรายงานผลการทดลอง

บันทึกผลการทดลอง

รายงานการปฏิบัติการเรื่อง.....

ชื่อผู้ทำการทดลอง

1.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

2.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

3.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

วันที่ทำการทดลอง.....

อาจารย์ผู้ควบคุม

1.....

2.....

วัตถุประสงค์

1.....

2.....

3.....

ผลการทดลอง

1. ปฏิบัติการเปลี่ยนโลหะทองแดงไปเป็นคอปเปอร์(II)ไนเตรต

น้ำหนักของโลหะทองแดงเริ่มต้นกรัม

1.1 โลหะทองแดงละลายใน 8 M HNO_3 ได้สารละลายสี.....ซึ่งเป็นสีของ.....

1.2 ในการละลายของโลหะทองแดงต้องใช้ความร้อนหรือไม่.....

1.3 แก๊สที่เกิดขึ้นระหว่างที่ละลายโลหะทองแดง คือ.....สี.....

1.4 จงเขียนสมการแสดงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น

.....

.....

2. ปฏิบัติการเปลี่ยนคอปเปอร์(II)ไนเตรต ไปเป็นคอปเปอร์(II)ไฮดรอกไซด์

2.1 เมื่อเติม 6 M NaOH ลงในสารละลายคอปเปอร์(II)ไนเตรต มีความร้อนเกิดขึ้นหรือไม่.....

2.2 เมื่อเติม 6 M NaOH จนสารละลายเป็นเบส พบการเปลี่ยนแปลงอย่างไร (เช่นสี และตะกอน)

.....

3. ปฏิบัติการเปลี่ยนคอปเปอร์(II)ไฮดรอกไซด์ ไปเป็นคอปเปอร์(II)ออกไซด์

3.1 เมื่อให้ความร้อนแก่ $\text{Cu}(\text{OH})_2$ จะทราบได้อย่างไรว่า $\text{Cu}(\text{OH})_2$ เปลี่ยนเป็น CuO อย่างสมบูรณ์แล้ว

.....

3.2 ในการกรองตะกอนของ CuO แบบลดความดัน มีข้อดีว่าการกรองแบบธรรมดาอย่างไร

.....

4. ปฏิบัติการเปลี่ยนคอปเปอร์(II)ออกไซด์ ไปเป็นคอปเปอร์(II)ซัลเฟต

4.1 รีเอเจนต์ที่ใช้ในขั้นตอนนี้คือ.....

4.2 สีของสารละลายคอปเปอร์(II)ซัลเฟต.....

4.3 เขียนสมการแสดงปฏิกิริยาที่เกิด

.....

.....

5. ปฏิบัติการเปลี่ยนคอปเปอร์(II)ซัลเฟต ไปเป็นโลหะทองแดง

5.1 เมื่อ Cu^{2+} ถูกรีดิวซ์หมดแล้ว สารละลายจะใสและไม่มีสี สารละลายขณะนี้เป็นสารละลายของอะไร

.....

5.2 ในการตรวจหาคอปเปอร์ไอออน Cu^{2+} เมื่อหยดสารละลายที่มี Cu^{2+} ลงในแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น นอกจากมีการเปลี่ยนสีของสารละลายแล้วยังมีการเปลี่ยนแปลงอย่างอื่นหรือไม่

.....

5.3 เขียนสมการไอออนิกของปฏิกิริยาระหว่างผงสังกะสีกับสารละลายคอปเปอร์(II)ซัลเฟต

.....

.....

5.4 โลหะทองแดงที่ได้ในตอนสุดท้าย

สี.....

คิดเป็นร้อยละของทองแดงที่ได้กลับคืนมา เท่ากับ.....

6. สรุปผลการทดลอง

จงพิจารณาว่ามีสาเหตุอะไรบ้างที่ทำให้เปอร์เซ็นต์ของโลหะทองแดงที่ได้กลับคืนมามีค่ามากกว่าหรือน้อยกว่า 100%

.....

การคำนวณ

.....

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

.....

คำถามท้ายการทดลอง

1. จงพิจารณาว่ามีสาเหตุอะไรบ้างที่ทำให้เปอร์เซ็นต์ของโลหะทองแดงที่ได้กลับคืนมามีค่ามากกว่าหรือน้อยกว่า 100 %
2. จากการทดลองถึงขั้นจนกำจัดผงสังกะสีที่มากเกินไป ถ้าสังเกตไม่เห็นฟองแก๊สเกิดขึ้นอีกแล้ว แสดงว่าผงสังกะสีละลายหมดนั้น พอนำมาเป็นข้อสรุปที่เป็นจริงเสมอไปได้หรือไม่ เพราะเหตุใด

บทที่ 4

สมบัติของธาตุและสารประกอบ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทดสอบสมบัติความเป็นโลหะและอโลหะของธาตุ
2. เพื่อเปรียบเทียบความว่องไวในการทำปฏิกิริยาเคมีของธาตุหมู่ 1A, 2A และ 3A
3. เพื่อศึกษาการละลายของสารประกอบของธาตุหมู่ 1A และ 2A
4. เพื่อทดสอบและเปรียบเทียบสมบัติของสารประกอบไอออนิกกับสารประกอบโคเวเลนต์

บทนำ

ธาตุ (Elements) เป็นสารบริสุทธิ์ที่เกิดจากอะตอมชนิดเดียวกัน ปัจจุบันมีธาตุจำนวนมากเกินกว่า 105 ธาตุ ธาตุพบได้ทั้งจากธรรมชาติและจากการสังเคราะห์ของนักวิทยาศาสตร์ ธาตุแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มคือ โลหะ อโลหะ กึ่งโลหะ และธาตุเฉื่อย

1. โลหะ (Metals) คือธาตุที่มีสมบัติโดยทั่วไปดังนี้ คือมีผิวมันวาว เกละแล้วมีเสียงดังกังวานมีความเหนียวจึงตีเป็นแผ่นและดึงเป็นเส้นได้ นำความร้อนและไฟฟ้าได้ดี เมื่อรวมกับกรดจะให้สารประกอบพวกเกลือและแก๊สไฮโดรเจน ออกไซด์ของโลหะทำปฏิกิริยากับน้ำได้ สารประกอบที่มีฤทธิ์เป็นเบส โลหะสามารถรวมตัวกับอโลหะได้ โดยโลหะเป็นฝ่ายจ่ายอิเล็กตรอนให้กับอโลหะเกิดเป็นสารประกอบไอออนิก เมื่อพิจารณาจากตารางธาตุ พบว่าโลหะจะอยู่ทางซ้ายมือของตารางธาตุ ได้แก่หมู่ 1A, 2A และ 3A ส่วนธาตุทรานซิชันทุกตัวมีสมบัติเป็นโลหะ

2. อโลหะ (Non-metals) คือธาตุที่มีสมบัติตรงข้ามกับโลหะ อโลหะสามารถรวมตัวกับพวกอโลหะด้วยกันเกิดเป็นสารประกอบโคเวเลนต์ อโลหะเมื่อรวมกับออกซิเจน ได้ออกไซด์ที่ละลายน้ำแล้วมีฤทธิ์เป็นกรด อโลหะมีทั้งสถานะเป็นของแข็ง ของเหลว และก๊าซ ถ้าพิจารณาในตารางธาตุ พบว่าอโลหะจะอยู่ทางขวาของตารางธาตุ ได้แก่หมู่ 7A, 6A และ 5A ส่วนธาตุในหมู่ 4A จะเป็นอโลหะได้บางตัวเท่านั้น

3. กึ่งโลหะ (Metalloid) มีทั้งหมด 8 ชนิด คือ B, Si, Ge, As, Sb, Te, Po และ At เป็นธาตุที่มีสมบัติเป็นได้ทั้งโลหะและอโลหะ

4. ธาตุเฉื่อย (Inert Gases) ได้แก่ธาตุที่ไม่ค่อยเกิดการเปลี่ยนแปลง จัดเป็นพวกที่มีเสถียรภาพ (Stable) มีพลังงานการแตกตัวสูงมากจึงแตกตัวได้ยาก ธาตุเฉื่อย ได้แก่ He, Ne, Ar, Kr, Xe และ Rn

สารประกอบ (Compounds) คือสารบริสุทธิ์ที่เกิดจากการรวมตัวของธาตุตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไปโดยอัตราส่วนการรวมตัวที่แน่นอน อะตอมของธาตุที่เข้ามารวมตัวกันยึดกันด้วยพันธะเคมี ถ้าหากยึดพันธะเคมีเป็นเกณฑ์ในการแบ่งประเภทของสารประกอบ จะแบ่งสารประกอบได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ

1.1 สารประกอบไอออนิก (Ionic Compounds) เป็นสารประกอบที่เกิดจากอะตอมมารวมตัวกันด้วยพันธะไอออนิก สถานะของสารประกอบไอออนิกส่วนมากเป็นของแข็ง พันธะไอออนิกเป็นพันธะที่มีความแข็งแรงจึงทำให้สารประกอบประเภทนี้มีจุดเดือดและจุดหลอมเหลวสูง ทั้งนี้เพราะผลึกของสารประกอบจะเกิดประจุบวกและประจุลบดึงดูดซึ่งกันและกันโดยทั่วผลึกในสถานะที่เป็นของแข็งไม่สามารถจะนำไฟฟ้าได้ เพราะประจุยึดกันแน่นอิเล็กตรอนไม่ได้เคลื่อนที่โดยอิสระและถ้าหลอมสารประกอบไอออนิกจนเปลี่ยนสถานะจากของแข็งมาเป็นของเหลวจะนำไฟฟ้าได้ สารประกอบประเภทนี้จะละลายได้ดีในน้ำเพราะโมเลกุลของน้ำจะเข้าไปล้อมรอบประจุทำให้แรงดึงดูดระหว่างประจุถูกทำลาย ประจุไฟฟ้าบวกและประจุไฟฟ้าลบเคลื่อนที่โดยอิสระ จึงทำให้สามารถนำไฟฟ้าได้ การเกิดปฏิกิริยาเคมีของสารประกอบนี้จะเกิดได้เร็ว เพราะเป็นปฏิกิริยาระหว่างประจุไฟฟ้า ตัวอย่างของสารประกอบประเภทนี้ได้แก่ NaCl, MgSO₄, CaCl₂, KBr เป็นต้น

1.2 สารประกอบโคเวเลนต์ (Covalent Compounds) เป็นสารประกอบที่เกิดจากการรวมตัวกันของอโลหะด้วยพันธะโคเวเลนต์ ส่วนมากแล้วสารประกอบประเภทนี้ไม่ละลายน้ำ ซึ่งเรียกว่าสารประกอบโคเวเลนต์ชนิดไม่มีขั้ว (Nonpolar Covalent Compounds) ได้แก่ ลูกเหม็น เฮกเซน ออกเทน ฯลฯ เป็นต้น แต่จะมีสารประกอบโคเวเลนต์อีกประเภทหนึ่งที่ละลายน้ำได้เรียกว่าสารประกอบโคเวเลนต์มีขั้ว (Polar Covalent Compounds) เช่น แอลกอฮอล์บางชนิด สารประกอบโคเวเลนต์มีจุดเดือดและจุดหลอมเหลวต่ำ เพราะแรงยึดระหว่างโมเลกุลเป็นแรงยึดที่ไม่แข็งแรง เช่น แรงแวนเดอร์วาลส์ ปฏิกิริยาของสารประกอบโคเวเลนต์ เกิดได้ช้าเพราะต้องมีการทำลายพันธะเดิมก่อนจึงสร้างพันธะใหม่ขึ้นมา

การทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์

- | | |
|--|----------------|
| 1. อ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) | 5. ชามระเหย |
| 2. เครื่องตรวจวัดการนำไฟฟ้า | 6. กระจกนาฬิกา |
| 3. หลอดทดลอง | 7. แท่งแก้วคน |
| 4. ปีกเกอร์ | 8. น้ำตาลทราย |

สารเคมี

- | | |
|--|-----------------------------------|
| 1. โซเดียมคลอไรด์ | (NaCl) |
| 2. โพแทสเซียม ไนเตรต | (KNO ₃) |
| 3. แนฟทาลีน | (C ₁₀ H ₈) |
| 4. โซเดียมไนไตรท์ | (NaNO ₂) |
| 5. ผงซัลเฟอร์ | (S) |
| 6. โลหะแมกนีเซียม | (Mg) |
| 7. โลหะโซเดียม | (Na) |
| 8. อะลูมิเนียม | (Al) |
| 9. กรดไฮโดรคลอริก แบบเข้มข้น | (HCl conc.) |
| 10. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1 M | (1M HCl) |
| 11. สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน | (Phenolphthalein Solution) |
| 12. กระดาษลิตมัส สีนํ้าเงิน และสีแดง | |

วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 ทดสอบสมบัติระหว่างโซเดียม แมกนีเซียม และอะลูมิเนียมกับน้ำ

1. เติมสารละลาย 1 M HCl จำนวน 3 mL และสารละลาย 1 M NaOH HCl จำนวน 3 mL ลงในหลอดทดลองอย่างละ 1 หลอด หยดฟีนอล์ฟทาลีนลงในหลอดทดลองทั้งสองหลอดๆ ละ 3 หยด สังเกตสีของสารละลาย

2. เติมนํ้ากลั่นปริมาตร 10 mL ลงในปิกเกอร์ขนาด 25 mL จำนวน 3 ใบ หยดฟีนอล์ฟทาลีนลงไปปิกเกอร์ละ 3 หยด เขย่าให้สารละลายผสมกัน สังเกตสีของสารละลาย

3. ใช้ปากคีบคีบชิ้นโลหะโซเดียมขนาดประมาณเท่าเมล็ดถั่วเขียว ใส่ลงในบีกเกอร์ใบที่หนึ่ง (Na เก็บไว้ในน้ำมัน เมื่อนักศึกษามารับต้องช้อนน้ำมันให้แห้ง แล้วรีบใส่ลงในบีกเกอร์) ใช้กระจกนาฬิกาปิดปากบีกเกอร์ทันที สังเกตการเปลี่ยนแปลง แล้วนำลวดแมกนีเซียม และอะลูมิเนียมที่ขัดสะอาดใส่ลงในบีกเกอร์ใบที่ 2 และ 3 ตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที สังเกตผล

4. นำบีกเกอร์ที่ 2 และ 3 ไปต้มที่อุณหภูมิประมาณ 60°C นานประมาณ 3 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลง

(ฟีนอล์ฟทาไลน์เป็นอินดิเคเตอร์ที่ใช้ทดสอบความเป็นกรด-เบส ในสารละลายที่เป็นกลางหรือเป็นกรด จะไม่มีสี ส่วนในสารละลายที่เป็นเบสส่วนใหญ่จะมีสีชมพู)

ตอนที่ 2 การละลายของสารประกอบของธาตุหมู่ IA และหมู่ IIA

1. ใส่สารต่อไปนี้ คือ NaCl Na_2CO_3 KNO_3 Na_2SO_4 ชนิดละ 0.5 กรัม ลงในหลอดทดลองขนาดใหญ่ชนิดละหนึ่งหลอด เติมน้ำกลั่นลงไปหลอดละ 10 mL เขย่าพร้อมทั้งสังเกตการละลาย บันทึกผล เก็บสารละลายไว้เพื่อทำการทดลองต่อไป

2. ใส่ MgCl_2 CaCl_2 BaCl_2 อย่างละ 0.5 กรัม ลงในหลอดทดลองขนาดใหญ่ 3 หลอด ๆ ละหนึ่งชนิด เติมน้ำกลั่นลงไปหลอดละ 10 mL เขย่า สังเกตการละลาย บันทึกผล เก็บสารละลายไว้เพื่อทำการทดลองต่อไป

3. รินสารละลาย MgCl_2 จากข้อ 2. ใส่หลอดทดลองขนาดเล็ก 3 หลอด ๆ ละ 2 mL เติมสารละลาย NaCl Na_2CO_3 KNO_3 และ Na_2SO_4 จากข้อ 1 ชนิดละ 2 mL ลงในแต่ละหลอดตามลำดับ สังเกตการเปลี่ยนแปลง บันทึกผล

4. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3 แต่ใช้สารละลาย CaCl_2 และ BaCl_2 แทนสารละลาย MgCl_2

ตอนที่ 3 ปฏิริยาของธาตุหมู่ VIIA

1. ใส่ CCl_4 ลงในหลอดทดลองขนาดเล็กจำนวน 3 หลอด หลอดละ 1 mL เติมสารละลายคลอรีน สารละลายโบรมีน และสารละลายไอโอดีนอย่างละ 5 – 6 หยด ลงไปหลอดละชนิด สังเกตสีของสารละลาย

2. ใส่สารละลาย KCl , KBr และ KI เข้มข้น 0.1 M ลงในหลอดทดลองขนาดเล็ก เติมสารละลายคลอรีนลงไปหลอดละ 10 หยด เขย่า แล้วเติม CCl_4 หลอดละ 1 mL ทุกหลอด เขย่าสังเกตการเปลี่ยนแปลง

3. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2 แต่ใช้สารละลายโบรมีน และสารละลายไอโอดีนแทนสารละลายคลอรีน

ตอนที่ 4 สมบัติสารประกอบไอออนิกและสารประกอบโคเวเลนต์

1. ชั่ง NaCl ใส่หลอดทดลองจำนวน 2 หลอด ๆ ละ 2 กรัม แล้ววัดการนำไฟฟ้าด้วยเครื่องวัดการนำไฟฟ้า

2. ตวงน้ำกลั่นจำนวน 5 mL ใส่ในหลอดทดลองที่ 1 คนสารละลายด้วยแท่งแก้ว สังเกตการละลายแล้วนำไปวัดการนำไฟฟ้าอีกครั้ง

3. ตวงเฮกเซน จำนวน 5 mL ใส่ในหลอดทดลองอีกหลอดหนึ่ง คนสารละลายด้วยแท่งแก้ว สังเกตการละลาย แล้วนำไปวัดการนำไฟฟ้าอีกครั้ง

4. ทำการทดลอง เช่นเดียวกับข้อ 1 - 3 แต่เปลี่ยนจาก NaCl เป็นน้ำตาลทราย KNO_3 C_{10}H_8 NaNO_2 สังเกตการเปลี่ยนแปลงแล้วบันทึกผล

5. ชั่ง NaCl หนัก 2 กรัม ใส่ชามระเหย แล้วนำไปหลอมจนเป็นของเหลว พร้อมทั้งตรวจสอบสภาพการนำไฟฟ้าในขณะที่หลอมเหลวอีกครั้ง

6. ชั่งน้ำตาลทราย ประมาณ 2 กรัม ใส่ชามระเหย แล้วนำไปหลอมจนเป็นของเหลว พร้อมทั้งตรวจสอบสภาพการนำไฟฟ้าในขณะที่หลอมเหลวอีกครั้ง

บันทึกผลการทดลอง

รายงานการปฏิบัติการเรื่อง.....

ชื่อผู้ทำการทดลอง

1.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

2.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

3.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

วันที่ทำการทดลอง.....

อาจารย์ผู้ควบคุม

1.....

2.....

วัตถุประสงค์

1.....

2.....

3.....

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 ทดสอบสมบัติระหว่างโซเดียม แมกนีเซียม และอะลูมิเนียม

เมื่อหยดสารละลายกรดไฮโดรคลอริกผสมกับฟีนอล์ฟทาไลน์.....

เมื่อหยดสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ผสมกับฟีนอล์ฟทาไลน์.....

ธาตุที่เติมลงในน้ำ	ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่สังเกตได้	
	น้ำที่อุณหภูมิห้อง	น้ำที่อุณหภูมิ 60°C
โซเดียม		-
แมกนีเซียม		
อะลูมิเนียม		

ตอนที่ 2 การละลายของสารประกอบของธาตุหมู่ IA และหมู่ IIA

สาร	การเปลี่ยนแปลงที่สังเกตได้เมื่อเติมสารละลาย			
	NaCl	Na ₂ CO ₃	KNO ₃	Na ₂ SO ₄
MgCl ₂				
CaCl ₂				
BaCl ₂				

ตอนที่ 3 ปฏิกิริยาของธาตุหมู่ VIIA

สาร	การเปลี่ยนแปลงที่สังเกตได้เมื่อเติมสารละลาย		
	Cl ₂ /CCl ₄	Br ₂ /CCl ₄	I ₂ /CCl ₄
KCl			
KBr			
KI			

ตอนที่ 4 สมบัติสารประกอบไอออนิกและสารประกอบโคเวเลนต์

สารทดสอบ	การนำไฟฟ้า		การละลาย		ชนิดของสารประกอบ
	ของแข็ง	สารละลาย	น้ำ	เฮกเซน	
NaCl					
น้ำตาลทราย					
KNO ₃					
C ₁₀ H ₈					
NaNO ₂					

การหาลอม

สภาพการนำไฟฟ้าของ NaCl เมื่อหาลอมเหลว.....

สภาพการนำไฟฟ้าของน้ำตาลทราย เมื่อหาลอมเหลว.....

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

.....

คำถามท้ายการทดลอง

1. จากตอนที่ 1 สารละลายในปิกรเกอร์ที่เติมธาตุแต่ละชนิดลงไปมีสมบัติเป็นกรดหรือเบส
2. จากตอนที่ 1 จงเรียงลำดับความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยากับน้ำของโลหะของธาตุที่ได้จากการทดลองจากมากไปหาน้อย
3. จากตอนที่ 2 จงเปรียบเทียบการละลายของสารประกอบของธาตุหมู่ที่ IA กับหมู่ IIA
4. จากตอนที่ 4 สารประกอบโคเวเลนต์จากการทดลองตอนที่ 4 ชนิดใด เป็นสารประกอบโคเวเลนต์มีขั้วและชนิดใดเป็นสารประกอบโคเวเลนต์ชนิดไม่มีขั้ว
5. จากตอนที่ 4 สารประกอบโคเวเลนต์ที่นำมาทดลอง แต่ละชนิดมีความสามารถในการหลอมเหลวเท่ากันหรือไม่ เพราะเหตุใดจงอธิบายและให้เหตุผลประกอบ

บทที่ 5

การสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนบางชนิด

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาปฏิกิริยาของสารประกอบเชิงซ้อน
2. เพื่อศึกษาวิธีการเตรียมสารประกอบเชิงซ้อน
3. ศึกษาการคำนวณหาปริมาณสารผลิตภัณฑ์

บทนำ

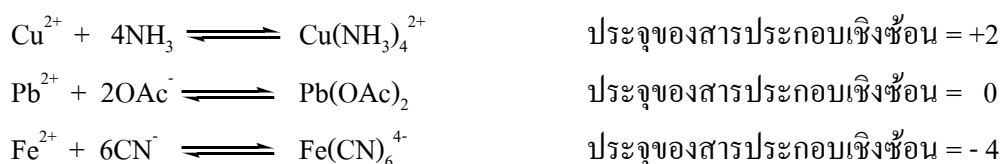
ในการทดลองอื่น ๆ ที่ผ่านมานักศึกษาได้พบกับสารเคมีหลายชนิด เคยได้สังเกตหรือไม่ว่า สารเคมีบางชนิดมีสูตรง่าย ๆ ไม่ซับซ้อนเช่น NaCl , AgCl แต่ก็ยังมีสารอีกหลายชนิดที่มีสูตรที่ซับซ้อนขึ้น เช่น $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$

สารประกอบประเภทหลังที่มีสูตรซับซ้อนพวกนี้ ปัจจุบันเป็นที่รู้จักกันดีและเรียกว่าสารประกอบเชิงซ้อน (complex compound) หรืออาจเรียกได้อีกชื่อหนึ่งว่า สารประกอบโคออร์ดิเนชัน (coordination compound) กล่าวโดยกว้าง ๆ ได้ว่าสารประกอบเชิงซ้อนจะประกอบด้วยโลหะศูนย์กลาง (central metal atom) ซึ่งมักจะเป็นโลหะทรานซิชัน มีอิเล็กตรอนใน d-orbitals เกิดพันธะโคออร์ดิเนตโคเวเลนต์กับลิแกนด์ (ligands) ซึ่งอาจเป็นโมเลกุลหรือไอออนจำนวนหนึ่งตัวหรือมากกว่า จำนวนของลิแกนด์ที่เกิดพันธะกับไอออนโลหะทรานซิชัน เรียกว่า เลขโคออร์ดิเนชัน (coordination number) โดยมีค่าตั้งแต่ 1 ถึง 12 แต่ที่พบบ่อยมักจะมีเลขโคออร์ดิเนชันเป็น 2, 4 และ 6 สารประกอบเชิงซ้อนเกิดขึ้นได้โดยไอออนของโลหะทำหน้าที่เป็นกรดลิวอิส (Lewis acid) รับอิเล็กตรอนคู่จากลิแกนด์ ส่วนลิแกนด์ทำหน้าที่เป็นเบสลิวอิส (Lewis base)

ตัวอย่างสารประกอบเชิงซ้อน หรือสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่ได้พบแล้ว (ในการวิเคราะห์หาอนุผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ) เช่น

$[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$	มีเลขโคออร์ดิเนชัน เท่ากับ 2
$[\text{Co}(\text{NCS})_4]^{2-}$	มีเลขโคออร์ดิเนชัน เท่ากับ 4
$[\text{Ni}(\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_2\text{O}_2)_2]$	มีเลขโคออร์ดิเนชัน เท่ากับ 4
$[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$	มีเลขโคออร์ดิเนชัน เท่ากับ 6

สมบัติที่สำคัญ โครงสร้างเป็นไอโซเมอร์ซิม (isomerism) พาราแมกเนติก (paramagnetic) และมีสี สำหรับประจุของสารประกอบเชิงซ้อน จะเป็นผลรวมของประจุบนไอออนหรือโมเลกุลที่ประกอบเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ตัวอย่าง



เนื่องจากโลหะทรานซิชันสามารถมีออกซิเดชันสเตท (oxidation state) ได้หลายค่า ทำให้สารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดจากไอออนของโลหะทรานซิชันมีได้หลายตัว มีสมบัติทางเคมีและทางกายภาพที่แตกต่างกันด้วย ไอออนโลหะทรานซิชันที่มีประจุมากกว่า +3 จะไม่สามารถทำปฏิกิริยากับน้ำได้ เช่น โครเมียมไอออน (Cr^{3+}) สามารถทำปฏิกิริยากับน้ำได้ แต่จะถูกออกซิไดซ์เป็นโครเมียม (VI) โดยทำปฏิกิริยากับน้ำได้ CrO_4^{2-} และ $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ และให้สีที่แตกต่างกันไป ดังตารางที่

5.1

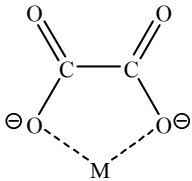
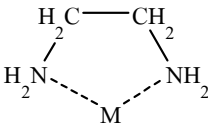
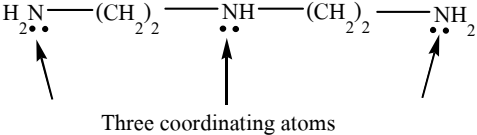
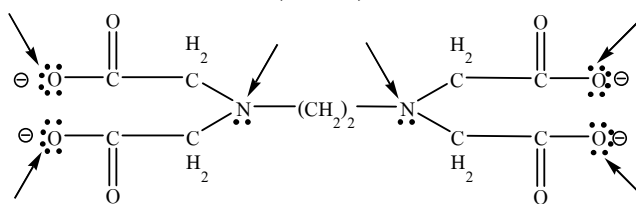
ตารางที่ 5.1 ชนิดของสารประกอบโครเมียม

Oxidation state of Chromium	Example of Compounds (X = halogen)
+2	CrX_2
+3	CrX_3 Cr_2O_3 (สีเขียว) $\text{Cr}(\text{OH})_3$ (สีฟ้า-เขียว)
+6	KCr_2O_7 (สีส้ม) $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (สีเหลือง) CrO_3 (สีแดง)

ลิแกนด์ เป็นโมเลกุลที่เป็นกลางหรือเป็นไอออนที่มีอิเล็กตรอนคู่ (lone pair electron) ที่สามารถใช้สร้างพันธะกับไอออนโลหะได้ ดังนั้นลิแกนด์จึงเป็นเบสลิวอิสที่ให้อิเล็กตรอนคู่ (electron pair donor) แก่ไอออนโลหะ ลิแกนด์ที่สามารถเกิดพันธะกับโลหะได้หนึ่งพันธะเรียกว่า โมโนเดนเทตลิแกนด์ (monodentate ligand) หรือ ยูนิเดนเทตลิแกนด์ (unidentate ligand มาจากคำว่า 'one tooth' หนึ่งฟัน)

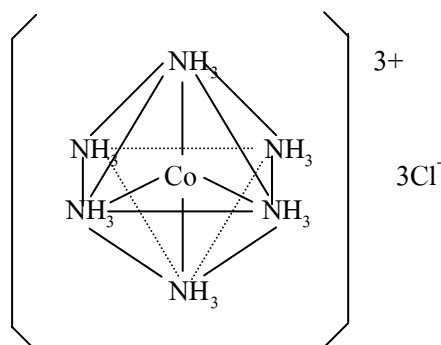
ลิแกนด์บางตัวมีตำแหน่งของอิเล็กตรอนคู่มากกว่าหนึ่งตำแหน่งที่สามารถเกิดพันธะกับไอออนโลหะได้ เรียกว่า กิเลติงลิแกนด์ (chelating ligands) หรือ กิเลต (chelates มาจากภาษากรีกว่า chela แปลว่า ก้ามปู) ลิแกนด์ที่สามารถเกิดพันธะได้ 2 พันธะกับไอออนโลหะเรียกว่า ไบเดนเททลิแกนด์ (bidentate ligand) ที่รู้จักกันดี คือ เอทิลีนไดอะมีน (ethylenediamine, en) และออกซาเลต (oxalate) ส่วนลิแกนด์ที่มีอะตอมมากกว่าหนึ่งอะตอมที่เกิดพันธะกับไอออนโลหะได้ จะเรียกว่า โพลีเดนเททลิแกนด์ (polydentate ligand) โพลีเดนเททลิแกนด์ที่สำคัญคือ เอทิลีนไดอะมีนเตตระอะซิเตต (ethylenediaminetetra-acetate, EDTA) ซึ่งจะมี 6 อะตอมที่เกิดพันธะได้จัดเป็น เฮกซะเดนเททลิแกนด์ (hexadentate ligand) สำหรับ EDTA นั้นทางการแพทย์มักใช้เป็นตัวที่จับกับโลหะหนักที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ออกจากเลือด

ตารางที่ 5.2 ตัวอย่างของลิแกนด์ชนิดต่าง ๆ

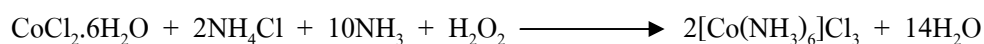
ชนิด	ตัวอย่าง	
Unidentate or monodentate	H ₂ O	SCN ⁻ (thiocyanate)
	NH ₃	OH ⁻
	CN ⁻	X ⁻ (halides)
	NO ₂ ⁻ (nitrite)	
Bidentate	Oxalate 	Ethylenediamine (en) 
Polydentate	Diethylenetriamine (dien) 	
	Ethylenediaminetetraacetate (EDTA) 	

เป็นที่น่าสังเกตว่า สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะทรานซิชันมักมีสีต่างๆ เช่น ชัดซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัว จึงใช้ประโยชน์ในการบ่งบอกว่าเป็นอะตอมของโลหะได้ ดังตัวอย่างที่นักศึกษาได้ประสบมาแล้ว แต่ทั้งนี้มิได้หมายความว่าสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะทุกชนิดจะต้องมีสีเสมอไป บางชนิดอาจไม่มีสีก็ได้ ข้อความในย่อหน้านี้เพียงแต่ต้องการให้นักศึกษาดังเป็นข้อสังเกตไว้เท่านั้น

สำหรับการเกิดพันธะและโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนนั้น จะยกตัวอย่าง $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ ในสารประกอบนี้ ส่วนที่ถือว่าเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่แท้จริง คือ $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ เท่านั้น ซึ่งประกอบด้วย NH_3 6 โมเลกุล มีพันธะเคมียึดติดกับ Co(III) เป็นรูปออกตะฮีดรอน ดังรูป



ส่วน Cl^- นั้น จะอยู่ภายนอกมีหน้าที่ดุลประจุเท่านั้น สารประกอบ $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ นี้ สังเคราะห์ขึ้นได้จากปฏิกิริยาระหว่างโคบอลต์คลอไรด์, แอมโมเนียมคลอไรด์, แอมโมเนีย และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ดังสมการ



ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ส่วนใหญ่จะกระทำในรูปของสารละลาย โดยการละลายสารตั้งต้นแล้วปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ แล้วจึงแยกผลิตภัณฑ์ออก ทำให้บริสุทธิ์ต่อไป

ความรู้เกี่ยวกับการละลายของสารจะมีประโยชน์มากในการทำสารให้บริสุทธิ์ เนื่องจาก การละลายของสารประกอบส่วนใหญ่จะลดลงตามอุณหภูมิ ดังนั้นวิธีแยกที่ง่ายคือ การทำสารละลายให้เย็นจนกระทั่งตกผลึกออกมา ขณะที่อุณหภูมิลดลงจะมีสารประกอบที่ไม่ต้องการบางอย่าง เช่น พวกละลายตั้งต้นที่หลงเหลืออยู่ตกผลึกออกมาด้วย ซึ่งจะกำจัดออกได้โดยการ

ตกผลึกใหม่โดยวิธีละลาย (ที่ยังไม่บริสุทธิ์) ในตัวทำละลายที่ร้อนในปริมาณเล็กน้อยแล้วกรองสารละลายเพื่อแยกเอาสารที่ไม่บริสุทธิ์ซึ่งไม่ละลายออกไป แล้วจึงทำสารละลายให้เย็นเพื่อให้สารที่ต้องการตกผลึกออกมา ซึ่งจะทำให้มีความบริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น

ในการทดลองนี้ นักศึกษาจะได้มีโอกาสสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของนิเกิลและทองแดง (เลือกทำอย่างใดอย่างหนึ่ง เพียงอย่างเดียว) โดยมีแอมโมเนีย (NH_3) เป็นลิแกนด์สารสองชนิดนี้มีสูตรเป็น $[\text{Ni}(\text{NH}_3)_x]\text{Cl}_2$ และ $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_x]\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ และจะทำการวิเคราะห์ว่าในแต่ละกรณีมี NH_3 กี่โมเลกุลล้อมรอบ (หาค่า x) หรืออีกนัยหนึ่งก็คือ หาเลขโคออร์ดิเนชันในสารประกอบเหล่านี้นั่นเอง

การทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์

- | | | |
|-------------------------|-------------------|-------------|
| 1. ปีกเกอร์ ขนาด 150 ml | 6. ขวดฉีดน้ำกลั่น | 11. น้ำแข็ง |
| 2. ขวดรูปกรวย | 7. กระจกนาฬิกา | 12. บิวเรต |
| 3. กระบอกตวง ขนาด 10 ml | 8. แท่งแก้วคน | |
| 4. เครื่องกรองดูด | 9. หลอดหยด | |
| 5. กระดาษกรอง | 10. hot plate | |

สารเคมี

- | | |
|--|---|
| 1. ผลึกนิเกิลคลอไรด์ | ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) |
| 2. ผลึกคอปเปอร์ซัลเฟต | ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) |
| 3. แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ แบบเข้มข้น | ($\text{NH}_4\text{OH conc.}$) |
| 4. 95% เอทานอล | (95% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) |
| 5. สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน | |
| 6. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.2000 M | (0.2000 M NaOH) |
| 7. สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 0.2000 M | (0.2000 M HCl) |
| 8. อะซีโตน | |
| 9. อีเธอร์ | |

วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 การสังเคราะห์ ในนักศึกษาเลือกสังเคราะห์สารตามที่กำหนดให้ดังต่อไปนี้เพียง 1 อย่าง

การสังเคราะห์ $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

1. ชั่ง $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 3 กรัม ในปิกรอร์ขนาด 150 mL (ใช้เครื่องชั่งชนิด 2 ตำแหน่ง) ละลายด้วยน้ำกลั่น 10 mL อุณหภูมิห้องจนหมด จะได้สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
2. หยดสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ แบบเข้มข้น ($\text{NH}_4\text{OH conc.}$) ลงในปิกรอร์ทีละหยดพร้อมคนสารละลาย (ทำในตู้ดูดควัน) จะพบว่าสีของสารละลายจะค่อย ๆ เปลี่ยนไปจากสีฟ้าเป็นสีฟ้าขุ่นของ $\text{Cu}(\text{OH})_2$ จนกระทั่งได้สารละลายสีน้ำเงินเข้มใสของ $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ สังเกตดูจะไม่พบส่วนของตะกอนอยู่
3. เติม 95% เอทานอล 10 mL ลงไป แล้วแช่ในน้ำเย็น (ใช้น้ำแข็ง) จะได้ผลึกสีน้ำเงินของ $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที เพื่อให้ได้ตะกอนตกสมบูรณ์
4. กรองผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยวิธีลดความดัน แล้วล้างตะกอนด้วย 95% เอทานอล ที่แช่เย็น 2 ครั้งและอีเทอร์ตามลำดับ
5. ตั้งตะกอนทิ้งไว้ในตู้ดูดควัน นำไปชั่งหาน้ำหนักของผลึกที่ได้ (ใช้เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง) นำสารประกอบที่สังเคราะห์ได้นี้ไปวิเคราะห์หาปริมาณ NH_3 (ค่า x) ตามวิธีในตอนที่ 2 ส่วนที่เหลือส่งอาจารย์ที่ควบคุม

นักศึกษาควรฝึกสังเกตและบันทึกสิ่งที่เกิดขึ้นในระหว่างการสังเคราะห์ไว้ด้วย เช่น มีการเปลี่ยนสี หรือมีการตกตะกอนเมื่อใด ลักษณะและสีของผลิตภัณฑ์ที่ได้ เป็นต้น

การสังเคราะห์ $[\text{Ni}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_2$

1. ชั่ง $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ประมาณ 6 กรัม ในปิกรอร์ ขนาด 150 mL (ใช้เครื่องชั่งชนิด 2 ตำแหน่ง) เติมน้ำ 10 mL ลงในปิกรอร์ คนด้วยแท่งแก้ว จนสารที่อยู่ในปิกรอร์ละลายหมด
2. หลังจากนั้น นำไปแช่ในน้ำเย็น แล้วเติมสารละลายแอมโมเนียมเข้มข้นที่เย็นทีละน้อยเป็นระยะๆ รวมได้ 18 mL (ทำในตู้ดูดควัน) คนตลอดเวลา ถ้ายังมีตะกอนสีเขียวของ $\text{Ni}(\text{OH})_2$ เหลืออยู่ ให้เติมสารละลายแอมโมเนียมเข้มข้นเพิ่มอีกประมาณ 3-5 mL สารละลายที่ได้จะต้องมีสีน้ำเงินเข้มและมีผลึกสีม่วงอยู่

3. กรองผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยวิธีลดความดัน ใช้ช้อนปลายแบนเขี่ยผลิตภัณฑ์ที่กรองได้ให้กระจายออกจากกัน แล้วล้างตะกอนด้วย แอมโมเนียเข้มข้นที่เย็น ประมาณ 5-8 mL และล้างด้วยอะซีโตน ที่เย็น 2 ครั้งๆ ละ 5 mL
4. ปลอ่ยให้ผลิตภัณฑ์แห้ง บันทึกน้ำหนักผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้ทั้งหมด (ใช้เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง) นำสารประกอบที่สังเคราะห์ได้นี้ไปวิเคราะห์หาปริมาณ NH_3 (ค่า x) ตามวิธีในตอนที่ 2 ส่วนที่เหลือส่งอาจารย์ที่ควบคุม

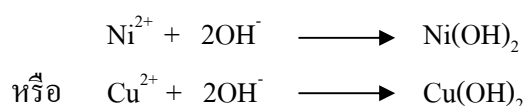
ตอนที่ 2 การวิเคราะห์หาปริมาณ NH_3 (ค่า x) ในสารประกอบ

1. ชั่งสารประกอบที่สังเคราะห์ได้ $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_x]\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ หรือ $[\text{Ni}(\text{NH}_3)_x]\text{Cl}_2$ ที่แห้งสนิทมา ประมาณ 0.2 กรัม (ใช้เครื่องชั่งอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง) แล้วใส่ในขวดรูปกรวยขนาด 250 mL
2. เติมกรด HCl 0.2000 M ปริมาตร 25 mL (ไขจากบิวเรต) ลงในขวดรูปกรวย หยดฟีนอล์ฟทาเลอินลงไป 5 หยด เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์สำหรับสังเกตจุดยุติ (end point)
3. ทำการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน NaOH จนถึงจุดยุติ จนสารละลายจะเริ่มมีสีชมพู (เนื่องจากสารละลายเดิมมีสีเขียวหรือสีน้ำเงินอยู่แล้ว การสังเกตจุดยุติ จะลำบากเล็กน้อย พยายามอย่าให้มีสีชมพูเข้มเกินไป เพราะจะเลยจุดยุติไปมาก ทำให้ข้อมูลคลาดเคลื่อนได้) ทำการทดลองซ้ำอย่างน้อยหนึ่งครั้ง ถ้าข้อมูลแตกต่างจากครั้งแรกมากกว่า 0.5 mL ให้ทำซ้ำอีก

วิธีการคำนวณ

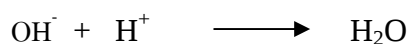
อนุมูลไฮดรอกไซด์ (OH^-) จากสารละลาย NaOH ที่ใช้ในการไทเทรตนั้น จะทำปฏิกิริยากับสารที่มีอยู่เดิมในขวดรูปกรวย ดังนี้

1. ส่วนที่เหลือของ OH^- จะทำปฏิกิริยากับอนุมูลของโลหะ (Ni^{2+} หรือ Cu^{2+}) เป็นสารประกอบไฮดรอกไซด์ตกตะกอนลงมา ดังนี้

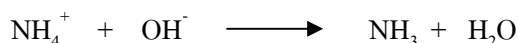


จากอัตราส่วนในการทำปฏิกิริยาจะเห็นว่า ถ้ามีอนุมูลโลหะ 1 โมล จะต้องใช้ OH^- 2 โมล

2. ส่วนที่สองของ OH^- จะทำปฏิกิริยากับกรดที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับ NH_3 (เนื่องจากสารประกอบที่ใช้ในการวิเคราะห์นี้มี NH_3 เป็นลิแกนด์ ในสภาพที่เป็นสารละลาย NH_3 จะหลุดออกมา และทำปฏิกิริยากับกรดกลายเป็น NH_4^+ แต่กรดที่เติมลงไปนั้นมีปริมาณมากกว่า NH_3 จึงยังเหลือกรดอีกส่วนหนึ่งในสารละลาย) ปฏิกิริยาในส่วนนี้คือ



3. ส่วนที่สามของ OH^- จะทำปฏิกิริยากับ NH_4^+ ที่เกิดขึ้นจากข้อ 2 เนื่องจากอนุมูล NH_4^+ มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน บางส่วน NH_4^+ (ไม่ใช่ทั้งหมด) จึงสามารถทำปฏิกิริยากับ OH^- ได้ ดังสมการ



เมื่อรวมปริมาณ OH^- ที่ใช้ในสามส่วนนี้เข้าด้วยกันจะต้องเท่ากับปริมาณ OH^- ทั้งหมดที่ใช้ในการไทเทรต (คิดเป็นโมล หรือมิลลิโมลก็ได้) นั่นคือ

$$\begin{aligned} &(\text{จำนวนโมล } \text{OH}^- \text{ ส่วนที่หนึ่ง}) + (\text{จำนวนโมล } \text{OH}^- \text{ ส่วนที่สอง}) + \\ &(\text{จำนวนโมล } \text{OH}^- \text{ ส่วนที่สาม}) = (\text{จำนวนโมล } \text{OH}^- \text{ จากการไทเทรต}) \end{aligned}$$

วิธีการคำนวณถ้าจะกล่าวโดยละเอียดจะยาวมากเกินไป จึงจะขอยกเฉพาะสูตรในขั้นสุดท้าย ซึ่งนักศึกษาจะต้องใช้ในการคำนวณหาค่า x มาแสดงไว้ดังนี้

$$X = \frac{3.112m + P_M(1.556)(N - n_{\text{OH}})}{m - (17)(1.556)(N - n_{\text{OH}})}$$

โดย m = น้ำหนักสารที่ใช้ในการวิเคราะห์มีหน่วยเป็นมิลลิกรัม

n_{OH^-} = ปริมาณ OH^- ที่ใช้ในการไทเทรตมีหน่วยเป็นมิลลิโมล
(mL ของ NaOH x ความเข้มข้นเป็นโมลาร์)

P_M = ค่าคงที่จากการคำนวณมวลโมเลกุลของสารประกอบที่ใช้วิเคราะห์ เช่น ถ้าเป็น $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_x]\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ จะมีมวลโมเลกุลเท่ากับ $177.5 + 17x$ ค่า P_M จะเท่ากับ 177.5

N = จำนวนมิลลิโมลของกรดที่ใช้

ดังนั้นจากข้อมูลที่นักศึกษาทำการไทเทรตได้ เมื่อใช้สูตรที่กำหนดให้ ก็จะสามารถคำนวณหาค่า x ได้ทำให้ทราบว่าสารที่สังเคราะห์ขึ้นนั้นมีสูตรที่แท้จริงเป็นอย่างไร

บันทึกผลการทดลอง

รายงานการปฏิบัติการเรื่อง.....

ชื่อผู้ทำการทดลอง

1.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

2.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

3.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

วันที่ทำการทดลอง.....

อาจารย์ผู้ควบคุม

1.....

2.....

วัตถุประสงค์

1.....

2.....

3.....

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 การสังเคราะห์

น.น. $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ที่ใช้.....g

หรือ น.น. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ที่ใช้.....g

น.น. ผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้.....g

ลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้.....g

ตอนที่ 2 การวิเคราะห์หาปริมาณ NH_3 (ค่า x) ในสารประกอบ

สารที่ใช้วิเคราะห์เป็น $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ หรือ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

น้ำหนักสารที่ใช้วิเคราะห์ (m).....g

คิดเป็น.....mg

ปริมาตรสารละลาย NaOH ในการไทเทรต ครั้งที่ 1.....mL

ในการไทเทรต ครั้งที่ 2.....mL

เฉลี่ย.....mL

ความเข้มข้นของสารละลาย NaOH.....M

คิดเป็นจำนวนมิลลิโมลของ OH^- ที่ใช้เฉลี่ย	mmol
ค่า P_M สำหรับสารที่วิเคราะห์	
ค่า x ที่คำนวณได้ (อาจมีทศนิยมได้)	
ค่า x ที่คิดเป็นจำนวนเต็ม	
สารที่วิเคราะห์สูตร	

การคำนวณ

.....

.....

.....

.....

.....

.....

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

บทที่ 6

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อคำนวณปริมาณของสารที่ใช้ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานได้ถูกต้อง
2. สามารถเลือกอุปกรณ์ที่ใช้เตรียมสารละลายได้ถูกต้อง
3. สามารถลำดับขั้นตอนการเตรียมสารละลายมาตรฐานได้ถูกต้อง
4. สามารถหาความเข้มข้นของสารละลายอื่นด้วยการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน

บทนำ

ในการศึกษาวิเคราะห์ด้านปริมาณทางเคมีจะประกอบด้วย การวิเคราะห์โดยการวัดทางน้ำหนัก (Gravimetric Analysis) และการวิเคราะห์โดยการวัดทางปริมาตร (Volumetric Analysis) ซึ่งวิธีหลังนิยมใช้วิธีวิเคราะห์ที่เรียกว่า Titrimetric Analysis ในการศึกษาวิเคราะห์โดยการวัดทางปริมาตรนี้จะใช้หลักการวัดปริมาตรของสารที่เข้าทำปฏิกิริยาพอดีกัน โดยการนำสารละลายที่ต้องการหาปริมาณหรือความเข้มข้นและทราบปริมาตรแน่นอนมาไทเทรต (Titrant) กับสารละลายมาตรฐาน (สารละลายที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน) และทราบปริมาตรในการเข้าทำปฏิกิริยา ข้อมูลที่ได้จากกระบวนการ สามารถนำมาคำนวณหาปริมาณหรือความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างได้

อุปกรณ์ที่มีความสำคัญต่อกระบวนการไทเทรต (Titration) จัดเป็นอุปกรณ์ที่มีความแม่นยำในการวัดปริมาตรสูง ดังนั้นจึงใช้บิวเรตและปิเปต เป็นอุปกรณ์หลักในการวัดปริมาตร สารละลายที่อยู่ในบิวเรตจะเรียกว่า ไทเทรนต์ (Titrant) และสารละลายที่อยู่ในขวดรูปชมพู่หรือถ้วยรินจะเรียกว่า ไทเทรนด์ (Titrand) ซึ่งใช้ปิเปต เป็นเครื่องมือในการวัด (รายละเอียดจะกล่าวอีกครั้งไปขั้นตอนการไทเทรต) นอกจากอุปกรณ์ดังกล่าวแล้ว สารละลายที่เข้ามาทำปฏิกิริยาพอดีกับสารละลายตัวอย่างจะต้องสามารถเตรียมให้มีความเข้มข้นที่แน่นอน เรียกสารละลายนี้ว่าสารละลายมาตรฐาน (Standard Solution) ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ชนิดตามลักษณะของสารที่ใช้เตรียม คือ

1. สารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ (Primary Standard Solution) เป็นสารละลายที่เตรียมได้จากสารมาตรฐานปฐมภูมิ ที่มีสมบัติดังนี้

- 1.1 เป็นสารที่บริสุทธิ์ หากมีสิ่งอื่นเจือปน สิ่งที่เจือปนนั้นต้องไม่เข้าทำปฏิกิริยา

1.2 ทำให้แห้งในตู้อบได้ และไม่เป็นสารดูดความชื้นหรือเปลี่ยนแปลงได้ง่ายเมื่อถูกอากาศ

1.3 เป็นสารที่ทราบสูตรแน่นอน และมีมวลโมเลกุลสูงเพื่อลดความผิดพลาดจากการชั่งตัวอย่างของสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิคือ โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (Potassium Hydrogen Phthalate, $\text{HKC}_8\text{H}_4\text{O}_4$) ซึ่งใช้เป็นสารละลายมาตรฐานในการหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide, NaOH)

2. สารละลายมาตรฐานทุติยภูมิ (Secondary Standard Solution) หรือ Derived Standard Solution) เป็นสารละลายมาตรฐานที่ไม่สามารถเตรียมให้ได้ความเข้มข้นที่แน่นอนได้โดยตรงเนื่องจากสารประเภทนี้เป็นสารดูดความชื้นหรือสลายได้เมื่อถูกกับอากาศ เช่น NaOH ดังนั้นน้ำหนักที่ชั่งได้ไม่ใช่ น้ำหนักที่ถูกต้องของเนื้อสาร ความเข้มข้นที่เตรียมได้จึงเป็นความเข้มข้นโดยประมาณ จะทราบความเข้มข้นที่แน่นอนได้ต้องนำไปไทเทรตกับสารละลายปฐมภูมิ ซึ่งเรียกว่า Standardization

การเตรียมสารละลายให้มีความเข้มข้นและปริมาตรตามต้องการ

ในการทดลองทางเคมี จะต้องเตรียมสารที่มีความเข้มข้นที่แน่นอนตามปริมาตรที่กำหนด และต้องอาศัยเทคนิคการชั่งและอุปกรณ์ที่จำเป็นในการเตรียมสารคือ ขวดปริมาตร ซึ่งมีเทคนิคการเตรียมดังนี้

1. ต้องคำนวณหาน้ำหนักที่แน่นอนของสารที่ต้องการเตรียม (ของแข็ง) ชั่งสารดังกล่าวในปริมาณที่กำหนด แล้วเทใส่ในขวดปริมาตร โดยผ่านกรวยกรอง ใช้ตัวทำละลายของแข็งที่ติดบนกรวยกรอง ให้ไหลลงในขวดปริมาตรจนหมด (ระวังไม่ให้สารที่จะละลายติดภาชนะที่ใช้ในตอนชั่งน้ำหนัก) ล้างข้างในภาชนะด้วยตัวทำละลาย **ภาพที่ 6.1 (ก และ ข)**

2. เติมตัวทำละลาย ลงไปจนได้ปริมาณ 3 ใน 4 ส่วนของปริมาตรที่ต้องการเขย่าผสมสารละลาย **ดั่งภาพที่ 6.1 (ค)** จนแน่ใจว่าสารผสมเป็นเนื้อเดียวกันทุกส่วน โดยสังเกตดูจากความใสของสารละลาย

3. เมื่อได้สารละลายแล้ว เติมตัวทำละลายลงไปจนถึงขีดปริมาตรที่ต้องการ ผสมสารละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน ด้วยการเขย่าขวดปริมาตร **ดั่งภาพที่ 6.1 (ง)** หลังจากการเขย่าสารละลายในขวดปริมาตร ก็ไม่ต้องเติมตัวทำละลายลงไปอีก

ข้อสังเกต ถ้าหากสารที่ต้องการเตรียมสารละลาย เป็นสารที่ละลายยากและจะต้องใช้ความร้อนช่วยในการละลาย จะต้องละลายสารนั้นในถ้วยรินก่อนจนกระทั่งละลายหมดจึงเทสารละลายลงในขวดปริมาตร ล้างถ้วยรินด้วยตัวทำละลายหลาย ๆ ครั้งจนแน่ใจว่าไม่มีสารละลายติดอยู่ที่ถ้วยริน เติมตัวทำละลายจนถึงขีดปริมาตรตามต้องการ โดยใช้หลอดหยด แล้วทำให้สารละลายให้เป็นเนื้อเดียว เช่นเดียวกับ ข้อ 3



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

ภาพที่ 6.1 การเตรียมสารละลายในขวดวัดปริมาตร

(ที่มา:

<http://images.krusa.multiply.multiplycontent.com/attachment/0/S2GL7wooCtUAAE0Gfhw1/%E0%B8%AA%E0%B8%AD%E0%B8%99%E0%B9%80%E0%B8%95%E0%B8%A3%E0%B8%B5%E0%B8%A2%E0%B8%A1%E0%B8%AA%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%A5%E0%B8%B0%E0%B8%A5%E0%B8%B2%E0%B8%A2.ppt?nmid=313072462#295,3>,ภาพนิ่ง 3)

4. ถ้าสารละลายเป็นของเหลว ให้ตวงของเหลวที่เป็นตัวถูกละลายลงในขวดปริมาตรที่คำนวณไว้ จากนั้นเติมตัวทำละลายไปจนถึงขีดปริมาตรที่ต้องการและดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 3

ในกระบวนการไทเทรต เมื่อสาร 2 ชนิดเข้าทำปฏิกิริยากันพอดี จุดที่สารทั้ง 2 ชนิดทำปฏิกิริยาพอดีกันจะเรียกว่าจุดสมมูล (Equivalent Point) ในทางปฏิบัติจะใช้อินดิเคเตอร์เป็นตัวบ่งชี้จุดสมมูล โดยพิจารณาเลือกอินดิเคเตอร์ที่มีการเปลี่ยนสีใกล้เคียงจุดสมมูลเรียกว่าจุดที่อินดิเคเตอร์เปลี่ยนสีว่าจุดยุติ (End Point) ดังนั้นการเลือกใช้อินดิเคเตอร์จึงมีความสำคัญต่อการไทเทรตเป็นอย่างยิ่ง อินดิเคเตอร์ที่นิยมใช้ในการไทเทรตระหว่าง กรด-เบส คือ

เมทิลออเรนจ์	เปลี่ยนสีได้ในช่วง pH 3.1 – 4.4 จากสีแดง – สีส้ม
บรอมไธโมลบลู	เปลี่ยนสีได้ในช่วง pH 6.0 – 7.6 จากสีเหลือง – สีนํ้าเงิน
ฟีนอล์ฟทาลีน	เปลี่ยนสีได้ในช่วง pH 8.3 – 10.0 จากไม่มีสี – สีชมพู

เมื่อปฏิกิริยาดำเนินการมาถึงจุดยุติ จะทราบปริมาตรของสารที่เข้าทำปฏิกิริยา และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหา ความเข้มข้นของสารละลายหนึ่งได้ด้วยสูตร

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

C_1	=	ความเข้มข้นของสารที่ต้องการทราบ
C_2	=	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน
V_1	=	ปริมาตรของสารที่ต้องการทราบความเข้มข้น
V_2	=	ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน

ขั้นตอนการไทเทรต

1. ส่วนมากนิยมรินสารละลายมาตรฐานใส่บิวเรตที่แห้งและสะอาด โดยให้ปริมาตรอยู่สูงเกินกว่าขีดบอกปริมาตร ไซสารละลายให้เติมบิวเรตโดยไม่ให้มีฟองอากาศที่ปลายบิวเรต นำไปยัดกับขาค้างด้วยที่จับปรับให้ขีดบนของสารละลายตรงกับขีดบอกปริมาตร สารละลายที่อยู่ในบิวเรตเรียกว่า ไตเตรน (Titrant)

2. ใช้ปิเปตดูดสารละลายอีกชนิดหนึ่งใส่ในขวดรูปชมพู่ หยดอินดิเคเตอร์ลงไป 2-3 หยด เขย่าขวดให้สารละลายผสมกัน สารละลายที่อยู่ในขวดรูปชมพู่ เรียกว่าไตเตรนด์ (Titrand) ใช้อินดิเคเตอร์ในปริมาณน้อยเพราะจะได้ไม่ทำให้ปริมาตรของสารที่เข้าทำปฏิกิริยาเปลี่ยนแปลง

3. นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน โดยค่อย ๆ ไขบิวเรตให้สารละลายมาตรฐานค่อย ๆ หยดลงไปทำปฏิกิริยาโดยใช้มือซ้ายไข ส่วนมือขวาถือขวดรูปชมพู่หมุนให้สารละลายผสมกันอยู่ตลอดเวลาหยดสุดท้ายที่สารละลายเปลี่ยนสีคือจุดยุติของปฏิกิริยา (จะสังเกตการเปลี่ยนสีได้ง่ายถ้าใช้กระดาษขาวรองขวด)

4. อ่านปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน การทดลองนี้ควรปฏิบัติซ้ำ 2-3 ครั้งแล้วนำไปหาค่าเฉลี่ย

การทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์

- | | |
|---------------------------|----------------------------|
| 1. ขวดปริมาตร ขนาด 100 mL | 5. แท่งแก้วคน |
| 2. เครื่องชั่งไฟฟ้า | 6. บิวเรต |
| 3. ขวดชั่ง | 7. ปิเปต |
| 4. บีกเกอร์ | 8. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 mL |

สารเคมี

- | | |
|-----------------------------|--|
| 1. โพแตสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต | ($\text{HKC}_8\text{H}_4\text{O}_4$) |
| 2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ | (NaOH) |
| 3. สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน | |

วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 เตรียมสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ

1. คำนวณหาน้ำหนักโพแตสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตที่ต้องการใช้ในการเตรียมเป็นสารละลายที่เข้มข้น 0.1 M จำนวน 100 mL

2. ชั่งโพแตสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตหนักเท่ากับน้ำหนักที่คำนวณได้ (โพแตสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตที่ใช้ต้องอบที่อุณหภูมิ 120°C นาน 2 ชั่วโมง) ลงในบีกเกอร์ ขนาด 50 mL

3. ละลายสารในข้อ 2 ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเทใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL และใส่น้ำกลั่นลงไปประมาณ 3 ใน 4 ส่วนของขวด เขย่าสารละลายให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน (วิธีใช้ขวดวัดปริมาตรเตรียมสารใช้วิธีการเดียวกับบทที่ 1)
4. เติมน้ำซึ่งเป็นตัวทำละลายลงไปจนถึงขีดบอกปริมาตร (ดูที่ส่วนโค้งต่ำสุดของตัวทำละลายถึงขีดบอกปริมาตรพอดี) เขย่าจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 0.1 M

ตอนที่ 2 เตรียมสารละลายทุติยภูมิ

1. เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์หนัก 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ ตวงน้ำกลั่น (ได้จากการนำเอาไปต้มก่อนแล้วปล่อยให้เย็น) จำนวน 240 mL ลงไปคนให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเก็บสารในขวดเก็บสารที่ทำด้วยพลาสติกอย่างดี
2. ปิเปตสารละลายที่ได้ในข้อ 4 จำนวน 25 mL ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 mL หยดฟีนอล์ฟทาลีนลงไป 2 – 3 หยด เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปไทเทรตกับ NaOH ที่อยู่ในบิวเรต จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีชมพูอ่อน แสดงว่าถึงจุดยุติ ให้จดปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ (การสังเกตสีของจุดยุติจะง่ายถ้าใช้กระดาษสีขาวรองใต้ขวดรูปชมพู่ขณะทดลอง)

บันทึกผลการทดลอง

รายงานการปฏิบัติการเรื่อง.....

ชื่อผู้ทำการทดลอง

1.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

2.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

3.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

วันที่ทำการทดลอง.....

อาจารย์ผู้ควบคุม

1.....

2.....

วัตถุประสงค์

1.....

2.....

3.....

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 เตรียมสารละลายมาตรฐานปฐภูมิ

มวลโมเลกุลของ $\text{HKC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ =

น้ำหนักภาชนะ + น้ำหนักสาร =.....

น้ำหนักภาชนะ =.....

น้ำหนักสาร =.....

ความเข้มข้น =.....

ตอนที่ 2 เตรียมสารละลายทุติยภูมิ

ครั้งที่	ปริมาตร $\text{HKC}_8\text{H}_4\text{O}_4$	ปริมาตร NaOH
1		
2		
3		
เฉลี่ย		

ความเข้มข้น NaOH

(แสดงวิธีคำนวณด้วย)

การคำนวณ

.....

.....

.....

.....

.....

.....

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

คำถามท้ายการทดลอง

1. เหตุใดจึงไม่สามารถใช้ NaOH เป็นสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิได้
2. Standardization หมายถึงอะไร มีวิธีการอย่างไร
3. จุดสมมูลย์ และจุดยุติแตกต่างกันอย่างไร

บทที่ 7

อัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมี

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา
2. เพื่อฝึกทักษะการทดลอง

บทนำ

ปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นมีอัตราการเกิดเร็วและช้าต่างกัน ซึ่งบางปฏิกิริยาอาจจะต้องใช้เวลาหลายวัน เช่น การเกิดสนิมของเหล็กหรือการผุกร่อนของโลหะ บางปฏิกิริยาอาจเกิดขึ้นได้เร็ว เช่น ปฏิกิริยาระหว่าง $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ กับ NH_4OH ให้ $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4$ หรือบางปฏิกิริยาอาจเกิดขึ้นได้เร็วมากหรือทันทีเช่น ปฏิกิริยาระหว่างหินปูนกับกรดจะได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทันที การเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นภายใน 1 หน่วยเวลา จะเรียกว่า อัตราปฏิกิริยา (Rate of Reaction)

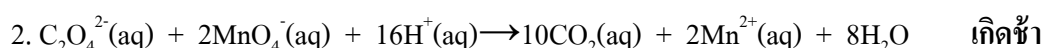
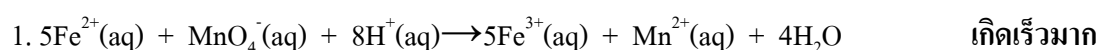
อัตราปฏิกิริยาเคมีสามารถวัดด้วยจำนวนโมลของสารที่เข้าทำปฏิกิริยาต่อหน่วยเวลาที่ผ่านไป ซึ่งจะวัดเป็นความเข้มข้นของสารเป็น โมล/ลิตร และระยะเวลาจะวัดเป็น วินาที ชั่วโมง หรือวัน อัตราของการเกิดปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นเร็วหรือช้าอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ซึ่งได้แก่

1. ชนิดของสารที่เข้าทำปฏิกิริยา
2. อุณหภูมิขณะทำการทดลอง
3. ความเข้มข้นของสารเข้าทำปฏิกิริยา
4. พื้นที่ผิวของสารเข้าทำปฏิกิริยา (ในกรณีที่สารเข้าทำปฏิกิริยาไม่ได้อยู่ในวัฏภาคเดียวกัน)
5. ตัวเร่งและตัวหน่วงปฏิกิริยา

1. ชนิดของสารที่เข้าทำปฏิกิริยา

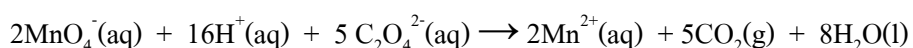
สารแต่ละชนิดมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีเร็วหรือช้าต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารนั้น ๆ ในหมู่ของตารางธาตุ เช่น ธาตุในหมู่ VIIA ได้แก่คลอรีน (Cl) กับธาตุในหมู่ IA ได้แก่ ไฮโดรเจน (H) ซึ่งทั้งสองหมู่จะทำปฏิกิริยากันรุนแรงมาก หรือถ้าเอาชิ้นของแมกนีเซียมทำปฏิกิริยากับกรดเกลือ จะได้ก๊าซไฮโดรเจนเกิดขึ้นทันทีและเร็วมาก แต่ถ้าเอาชิ้นของเหล็กมาทำปฏิกิริยากับกรดไฮโดรคลอริกจะได้ก๊าซไฮโดรเจนเช่นเดียวกันแต่ปฏิกิริยาเกิดได้ช้ามาก หรือในปฏิกิริยา

รีดักชัน (reduction reaction) ของเปอร์แมงกาเนตไอออน (MnO_4^-) ในสารละลายกรดโดยใช้เหล็กไอออน(Fe(II)) สีม่วงแดงของสารละลายเปอร์แมงกาเนตจางหายไปอย่างรวดเร็วเมื่อเติมสารละลายของเหล็ก(II)ซัลเฟต ลงไป แต่ถ้าเปลี่ยนจากเหล็ก(II)ซัลเฟต มาเป็นกรดออกซาลิก ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$) แทนสีของสารละลายเปอร์แมงกาเนตจะค่อยจางลงอย่างช้า ๆ ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าอัตราของปฏิกิริยารับขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำปฏิกิริยา

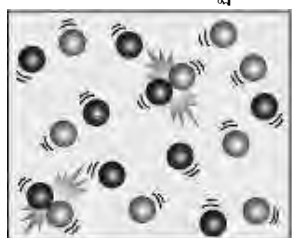


2. อุณหภูมิขณะทำการทดลอง

ปฏิกิริยาเคมีบางชนิดต้องอาศัยอุณหภูมิเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเร็วขึ้น บางปฏิกิริยาถ้าปล่อยให้ทำปฏิกิริยากันเองในสภาวะอุณหภูมิปกติอาจจะต้องใช้เวลานานหรือไม่เกิดก็ได้ การเพิ่มอุณหภูมิให้แก่ปฏิกิริยาเท่ากับเป็นการเพิ่มอัตราของปฏิกิริยา เมื่ออุณหภูมิเพิ่มจะทำให้อนุภาคของสารเข้าทำปฏิกิริยามีพลังงานจลน์เพิ่มขึ้น ดังนั้นอนุภาคจะต้องมีพลังงานมากพอที่จะปะทะกันแล้วจึงจะเกิดปฏิกิริยาขึ้น เช่น การรวมตัวของก๊าซไฮโดรเจนกับก๊าซออกซิเจน จะเกิดเป็นน้ำช้ามากหรือแทบไม่เกิดขึ้นเลยในสภาวะอุณหภูมิปกติ แต่ถ้าให้ความร้อนหรือจุดไฟก๊าซทั้งสองจะรวมตัวกันอย่างรุนแรงจนเกิดการระเบิดได้อิหรือน้ำเกิดขึ้น หรือการทำปฏิกิริยาของสารละลายกรดออกซาลิกกับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในสารละลายกรด อัตราการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเป็นสารละลายที่ไม่มีสีจะเร็วขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ดังสมการ

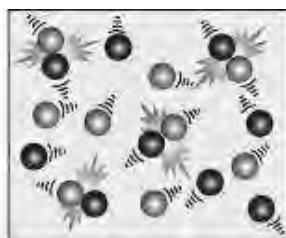


หรืออาหารที่เก็บในตู้เย็นจะไม่เกิดการบูดเน่าเนื่องจากความร้อนไปเพิ่มอัตราของปฏิกิริยา



ปฏิกิริยาที่อุณหภูมิต่ำ

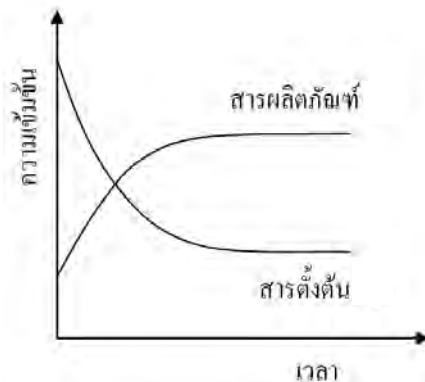
แต่ถ้านำมาไว้อุณหภูมิห้องจะเกิดการบูดเน่าได้



ปฏิกิริยาที่อุณหภูมิสูง

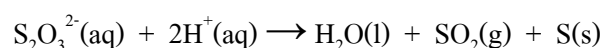
3. ความเข้มข้นของสารเข้าทำปฏิกิริยา

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารใดสารหนึ่งในปฏิกิริยา จะทำให้ปฏิกิริยาเกิดเร็วขึ้น ค่าความเข้มข้นของสารที่เข้าทำปฏิกิริยา คือ โมล/ลิตร และเวลาที่ใช้ไปในการทำปฏิกิริยาสามารถวัดเป็นวินาที ชั่วโมง นาที หรือวินาที ขึ้นกับอัตราของปฏิกิริยาว่าเกิดขึ้นเร็วหรือช้า ปฏิกิริยามักจะเกิดรวดเร็วในตอนเริ่มต้นและค่อย ๆ ช้าลง เนื่องจากปริมาณของตัวทำละลายลดลง

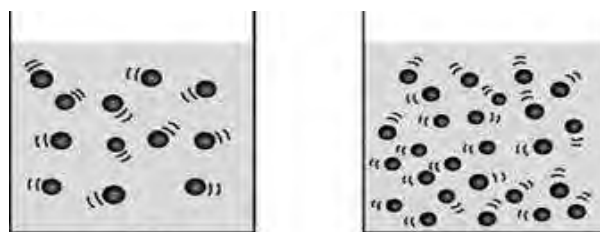


ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นกับเวลา

จากทฤษฎีการชน (Collision theory) เมื่อความเข้มข้นของสารเพิ่มขึ้น จำนวนอนุภาคของสารที่จะเข้าทำปฏิกิริยาก็มีมากขึ้น โอกาสที่จะเกิดปฏิกิริยาก็เป็นไปได้มากขึ้นเช่นกัน ดังนั้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารตั้งต้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเร็วขึ้น ในทางตรงข้าม ถ้าลดความเข้มข้นของสารตั้งต้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะช้าลง แต่ไม่ใช่ทุกกรณี มีบางปฏิกิริยาเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารบางตัว จะไม่ทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนแปลง เพราะดังที่ได้ทราบมาแล้วว่าในการเกิดปฏิกิริยาอาจเกิดหลายขั้นตอนและในการคิดอัตราของปฏิกิริยา จะขึ้นอยู่กับขั้นตอนที่ช้าที่สุด และถ้าในขั้นตอนดังกล่าว สารที่เราเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นไม่ได้มีส่วนร่วมในการเกิดปฏิกิริยาด้วย ก็ทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาไม่เปลี่ยน เช่น ปฏิกิริยาระหว่างโซเดียมไธโอซัลเฟต ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) กับกรดไฮโดรคลอริก (HCl)



จากการศึกษาพบว่า ในปฏิกิริยานี้อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะขึ้นกับความเข้มข้นของโซเดียมไธโอซัลเฟต ไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก เพราะฉะนั้นเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะไม่เปลี่ยนแปลง ทั้งนี้เพราะในขั้นตอนของปฏิกิริยาที่ช้าที่สุด (ขั้นกำหนดอัตรา) กรดไฮโดรคลอริกไม่ได้เกี่ยวข้อง

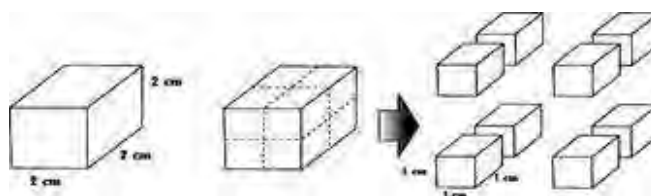
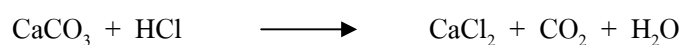


ความเข้มข้นต่ำ

ความเข้มข้นสูง

4. พื้นที่ผิวของสารเข้าทำปฏิกิริยา (ในกรณีที่สารเข้าทำปฏิกิริยาอยู่ในวัฏภาคที่แตกต่างกัน)

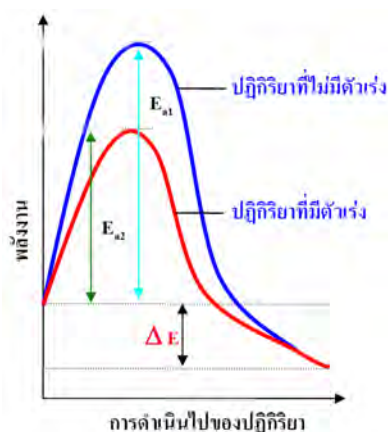
พื้นที่ผิวจะมีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมี ปฏิกิริยาวิวิธพันธุ์เกิดขึ้นที่ผิวของวัฏภาค ดังนั้นยิ่งเพิ่มพื้นที่ผิวของตัวทำปฏิกิริยา ปฏิกิริยาก็ยิ่งเกิดขึ้นเร็ว เช่นปฏิกิริยาของสังกะสีกับกรดไฮโดรคลอริกเจือจางซึ่งให้ก๊าซไฮโดรเจน ถ้าใช้สังกะสีชิ้นโตปฏิกิริยาเกิดช้าแต่ถ้าใช้สังกะสีชิ้นเล็กหรือผงสังกะสีปฏิกิริยาจะเกิดรวดเร็ว ทั้งนี้เพราะในปริมาณที่เท่ากันเมื่อขนาดชิ้นวัตถุยิ่งเล็กลงพื้นที่ผิวยิ่งมากขึ้น หรือปฏิกิริยาระหว่างแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3 ในชอล์ก) กับกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ดังสมการ



ความแตกต่างของพื้นที่ผิว

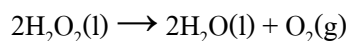
5. ตัวเร่งหรือคะตะลิสต์ (Catalyst) และตัวหน่วง (Inhibitor) ของปฏิกิริยา

ตัวเร่งหรือคะตะลิสต์ (Catalyst) ตัวเร่งหรือคะตะลิสต์ หมายถึงสารที่ช่วยเร่งปฏิกิริยา หรือลดค่าพลังงานกระตุ้น (Activation energy) ของปฏิกิริยาให้ต่ำลง ตัวคะตะลิสต์จะเข้าร่วมตัวกับสารตั้งต้นเพื่อจัดโครงสร้างให้เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาได้เร็วขึ้น เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุดลง ตัวคะตะลิสต์ก็จะกลับคืนเป็นสารเดิม ตัวอย่างคะตะลิสต์ที่มีผลต่อปฏิกิริยา ได้แก่ การฟอกขาวสีของ KMnO_4 และ $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ โดยมี MnSO_4 เป็นคะตะลิสต์ จึงทำให้สีของ KMnO_4 จะเปลี่ยนจากสีม่วงไปเป็นไม่มีสี ซึ่งจะใช้เวลาน้อยกว่าที่ไม่มีคะตะลิสต์ในปฏิกิริยา

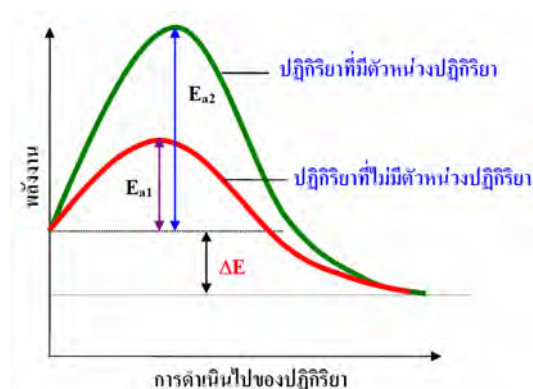


แสดงปฏิกิริยาที่ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาและไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา

ตัวหน่วงปฏิกิริยา (Inhibitor) ตัวหน่วงปฏิกิริยาหรือตัวยับยั้ง หมายถึงสารบางชนิดที่เติมลงไปในของผสมที่นำมาทำปฏิกิริยา อาจทำให้ปฏิกิริยาเกิดช้าลงหรือหยุดยั้งปฏิกิริยาได้อย่างสิ้นเชิงหรือไปเพิ่มค่าพลังงานกระตุ้น (Activation energy) ของปฏิกิริยาให้สูงขึ้น เช่นปฏิกิริยาการสลายของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ได้น้ำและก๊าซออกซิเจน ดังสมการ



ปฏิกิริยานี้ถ้าเติมสารบางอย่างเช่นฟอสเฟตหรือกรดไฮโดรคลอริกเจือจางหรือเดิมกลีเซอรอลลงไปเล็กน้อย จะทำให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สลายตัวได้ช้าลง



แสดงพลังงานก่อกัมมันต์ของปฏิกิริยาที่มีตัวหน่วงและไม่มีตัวหน่วงปฏิกิริยา

การทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์

- | | |
|---------------------------|-----------------------|
| 1. บีกเกอร์ | 5. หลอดหยด |
| 2. นาฬิกาจับเวลา | 6. แท่งแก้วคน |
| 3. เทอร์โมมิเตอร์ | 7. อ่างควบคุมอุณหภูมิ |
| 4. ขวดรูปกรวย ขนาด 125 mL | |

สารเคมี

- | | |
|--|--|
| 1. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 2.0 M | (2.0 M HCl) |
| 2. สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต เข้มข้น 0.3 M | (0.3 M Na ₂ S ₂ O ₃) |
| 3. สารละลายกรดออกซาลิก เข้มข้น 0.05 M | (0.05 M H ₂ C ₂ O ₄) |
| 4. สารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 1 M | (1 M H ₂ SO ₄) |
| 5. สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต เข้มข้น 0.005 M | (0.005 M KMnO ₄) |
| 6. สารละลายแมงกานีส(II) ซัลเฟต เข้มข้น 0.1 M | (0.1 M MnSO ₄) |
| 7. สารละลายกรดอะซิติก เข้มข้น 0.5 M | (0.5 M CH ₃ COOH) |
| 8. ผงโซเดียมฟลูออไรด์ | |
| 9. ผงซอล์ก | |
| 10. เปลือกไข่บดละเอียด | |

วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 ความเข้มข้นของสารตั้งต้นกับอัตราการเกิดปฏิกิริยา

ใช้สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่มีความเข้มข้นต่างกัน ทำปฏิกิริยากับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้นคงที่

1. ริน 2 M HCl จำนวน 3 mL ลงในหลอดทดลองขนาดกลาง
2. นำกระดาษสีขาวมาทำเครื่องหมายกากบาทโดยให้อยู่สูงจากด้านล่างของกระดาษ 2.5 cm
3. เติม 0.3 M Na₂SO₃ จำนวน 3 mL ลงในหลอดทดลองในข้อที่ 1 เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งหลอดทดลองให้อยู่หน้าและชิดกับเครื่องหมายกากบาท สังเกตและจับเวลาดังแต่ผสมสารจนมองไม่เห็นกากบาท
4. ทำการทดลองอีก 2 ครั้ง โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้นและปริมาตรเท่าเดิม ผสมกับโซเดียมไทโอซัลเฟตและน้ำกลั่นตามปริมาตรที่กำหนดในตาราง

ตารางแสดงปริมาณของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตและน้ำที่ใช้ในการทดลอง

หลอดที่	ปริมาณของสารละลาย HCl (mL)	ปริมาณของสารละลาย Na ₂ S ₂ O ₃ (mL)	ปริมาณของน้ำ (mL)
1	3	3	0
2	3	2	1
3	3	1	2

5. ตั้งเกิดและบันทึกผลการทดลอง

ตอนที่ 2 ผลของอุณหภูมิที่มีต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา

- ใช้หลอดทดลองขนาดเล็กบรรจุ 0.05 M H₂C₂O₄ จำนวน 10 หยด แล้วเติม 1 M H₂SO₄ 5 หยด แล้วเติม 0.005 M KMnO₄ 10 หยด เขย่าและจับเวลาตั้งแต่เติมสารละลาย KMnO₄ ลงไปจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นไม่มีสี
- ทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1 แต่นำหลอดทดลองใส่สารละลายผสมไปแช่น้ำที่ควบคุมอุณหภูมิคงที่ประมาณ 60°C เป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงเติม 0.005 M KMnO₄ 10 หยด เขย่าและจับเวลา
- ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2 อีก 2 ครั้ง โดยลดอุณหภูมิเป็นประมาณ 40°C และ 20°C ตามลำดับ

ตอนที่ 3 ผลของพื้นที่ผิวของสารต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา

- ชั่งผงซอล์กบดละเอียด ประมาณ 0.5 กรัม ใส่ขวดรูปกรวยขนาด 125 mL ที่แห้ง แล้วเทกรด 2.0 M HCl จำนวน 10 mL ลงไป เริ่มจับเวลา เขย่าให้ของผสมทำปฏิกิริยากันจนกระทั่งได้สารละลายใส
- ชั่งแท่งซอล์กที่ไม่ได้บด ประมาณ 0.5 กรัม ใส่ขวดรูปกรวยขนาด 125 mL ที่แห้ง แล้วเทกรด 2.0 M HCl จำนวน 10 mL ลงไป เริ่มจับเวลา เขย่าให้ของผสมทำปฏิกิริยากันจนกระทั่งได้สารละลายใส

ตอนที่ 4 ผลของตัวเร่งและตัวหน่วงปฏิกิริยาต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา

4.1 ผลของตัวเร่งของปฏิกิริยาระหว่างกรดออกซาลิกกับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

1. ใส่น้ำสารละลาย $0.05\text{ M H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ จำนวน 10 หยดกับสารละลาย $1\text{ M H}_2\text{SO}_4$ จำนวน 5 หยดลงในหลอดทดลองขนาดเล็ก 2 หลอด
2. เติมน้ำสารละลาย 0.005 M KMnO_4 10 หยด ในหลอดทดลองที่ 1 เขย่าแล้วจับเวลาจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นไม่มีสี
3. เติมน้ำสารละลาย 0.005 M KMnO_4 10 หยด ในหลอดทดลองที่ 2 แล้วเติมน้ำสารละลาย 0.1 M MnSO_4 จำนวน 2 หยด เขย่าแล้วจับเวลาจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นไม่มีสี

4.2 ผลของตัวหน่วงปฏิกิริยาของปฏิกิริยาระหว่างกรดแอซิกกับแคลเซียมคาร์บอเนตในเปลือกไข่

1. ใสเปลือกไข่ที่ตากแห้งและบดละเอียด ลงในหลอดทดลองขนาดกลาง 2 หลอด ๆ ละ 1 กรัม
2. ใสผงโซเดียมฟลูออไรด์ 0.1 กรัมลงในหลอดทดลองที่ 2 คลุกเคล้าให้เข้ากัน
3. นำหลอดทดลองจากข้อ 1 และ 2 มาเติมน้ำสารละลาย $0.5\text{ M CH}_3\text{COOH}$ หลอดละ 1 mL สังเกตการเปลี่ยนแปลง

บันทึกผลการทดลอง

รายงานการปฏิบัติการเรื่อง.....

ชื่อผู้ทำการทดลอง

1.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

2.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

3.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

วันที่ทำการทดลอง.....

อาจารย์ผู้ควบคุม

1.....

2.....

วัตถุประสงค์

1.....

2.....

3.....

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 ผลของความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่มีต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา

หลอดที่	ปริมาตรของสารละลาย $\text{HCl} + \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 + \text{น้ำ}$ (mL)	เวลาที่ใช้ (s)
1	3 + 3 + 0	
2	3 + 2 + 1	
3	3 + 1 + 2	

ตอนที่ 2 ผลของอุณหภูมิที่มีต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา

อุณหภูมิที่ทำปฏิกิริยา	20°C	อุณหภูมิห้อง	40°C	60°C
เวลาในการทำปฏิกิริยา (s)				

ตอนที่ 3 ผลของพื้นที่ผิวต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา

ผงซัลเฟอร์ไดออกไซด์ + HCl ใช้เวลา.....

ชิ้นซัลเฟอร์ + HCl ใช้เวลา.....

ตอนที่ 4 ผลของตัวเร่งและตัวหน่วงปฏิกิริยาต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา

4.1 ผลของตัวเร่งของปฏิกิริยาระหว่างกรดออกซาลิกกับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

หลอดที่	สารที่ทำปฏิกิริยา	ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยา (s)
1	$\text{KMnO}_4 + \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$	
2	$\text{KMnO}_4 + \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4 + \text{MnSO}_4$	

4.2 ผลของตัวหน่วงปฏิกิริยาของปฏิกิริยาระหว่างกรดแอซิกกับแคลเซียมคาร์บอเนตในเปลือกไข่

หลอดที่	สารที่ทำปฏิกิริยา	การเปลี่ยนแปลงที่สังเกตได้
1	เปลือกไข่ กับกรดแอซิก	
2	เปลือกไข่ผสมโซเดียมฟลูออไรด์ กับกรดแอซิก	

คำถามท้ายการทดลอง

- จากผลของปฏิกิริยาตอนที่ 1 จงสรุปผลของการเปลี่ยนความเข้มข้นของสารเข้าทำปฏิกิริยาที่มีต่ออัตราปฏิกิริยา
- จากผลของปฏิกิริยาตอนที่ 2 จงสรุปผลการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่มีต่ออัตราปฏิกิริยา
- ถ้าต้องการให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีเพิ่มมากขึ้นควรเติมสิ่งใดบ้าง

บทที่ 8

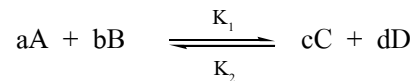
สมดุลเคมี

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาลักษณะสมดุลเคมีทั่ว ๆ ไป
2. เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อสภาวะสมดุลเคมี ตามหลักของเลอ ชาเตอลิเยร์ (Le Chatelier's Principle)
3. เพื่อศึกษาผลของไอออนร่วม (Common ion effect) ที่มีต่อสมดุลของปฏิกิริยา และค่าคงที่สมดุลของปฏิกิริยา (Equilibrium constant)

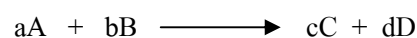
บทนำ

สมดุลเคมี (Chemical equilibrium) เป็นปฏิกิริยาเคมีที่ความเร็วของปฏิกิริยาไปข้างหน้ากับปฏิกิริยาย้อนกลับมีความเร็วเท่ากัน ดังสมการเคมีดังนี้

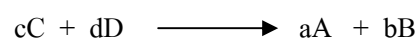


ปฏิกิริยาเคมีของการเปลี่ยนแปลงสาร A กับ B ได้สาร C กับ D และสาร C กับ D เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยาย้อนกลับไปเป็นสาร A กับ B ได้ จะแยกได้เป็น 2 ปฏิกิริยา ดังนี้

1. ปฏิกิริยาไปข้างหน้า (Forward Reaction) คือ



2. ปฏิกิริยาย้อนหลัง (Reverse Reaction) คือ



เมื่ออัตราปฏิกิริยาของความเร็วที่ไปข้างหน้าและย้อนกลับมีความเร็วเท่ากัน สภาวะนี้เรียกว่า สมดุลเคมี ในสภาวะสมดุลความเข้มข้นของสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเป็นค่าคงตัวทุกสาร เนื่องจากอัตราการลดลงของสารตั้งต้นเท่ากับอัตราการเพิ่มของสารผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจากสมการเคมีข้างต้นและจากกฎอัตราของปฏิกิริยาจะได้

ปฏิกิริยาไปข้างหน้า $r = K_1[A]^a[B]^b$

ปฏิกิริยาไปย้อนกลับ $r = K_2[C]^c[D]^d$

$$K_1[A]^a[B]^b = K_2[C]^c[D]^d$$

$$\frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b} = \frac{K_1}{K_2} = K$$

เมื่อ $[A],[B],[C],[D]$ คือ ความเข้มข้นของสารที่มีหน่วยเป็น โมล/ลิตร

a, b, c, d คือ ตัวเลขแสดงจำนวน โมลของสารที่อยู่ในปฏิกิริยา
(สัมประสิทธิ์ที่แสดงจำนวนโมลของสารในปฏิกิริยาที่ดุลแล้ว)

ค่า K คือค่าคงที่สมดุล จะขึ้นอยู่กับเฉพาะอุณหภูมิขณะทำการทดลอง ถ้าอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไปค่า K ย่อมเปลี่ยนแปลงไปด้วย

หลักเลอชาเตอลิเยร์ (Le Chaterier's Principle)

ในสภาวะที่ปฏิกิริยาสมดุล ถ้าไม่มีสิ่งใดมารบกวน ปฏิกิริยาของการดำเนินไปข้างหน้าและปฏิกิริยาย้อนกลับจะเท่ากัน ในขณะที่ระบบอยู่ในสภาวะสมดุล ถ้ามีอะไรบางอย่างจากภายนอกระบบมารบกวน สภาวะสมดุลก็จะเกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้น เช่น อาจจะเพิ่มหรือลดความเข้มข้นของสารที่เข้าทำปฏิกิริยา การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิหรือความดันของระบบนี้ อาจทำให้อัตราของปฏิกิริยาที่อยู่ในสภาวะสมดุลเคลื่อนที่ไปข้างหน้าหรือย้อนกลับก็ได้ ถ้าสภาวะของระบบเกิดเปลี่ยนแปลงไป ระบบจะมีการปรับตัวเองเพื่อให้เข้าสู่สภาวะสมดุลของปฏิกิริยา หลักการนี้เรียกว่ากฎของเลอชาเตอลิเยร์ (Le Chaterier's Principle) ปัจจัยที่มีผลทำให้สภาวะของระบบสมดุลเปลี่ยนไป ได้แก่

1. ความเข้มข้นของสาร
2. อุณหภูมิ
3. ความดัน
4. คะตะลิสต์

1. ความเข้มข้นของสาร

จากปฏิกิริยา $H_2(g) + I_2(g) \rightleftharpoons 2HI(g)$ เมื่อความเข้มข้นของสารทั้งสามอยู่ในสภาวะสมดุล ถ้าเพิ่มความเข้มข้นของสารตั้งต้นคือ $H_2(g)$ จะทำให้ระบบเสียสมดุลและระบบจะ

พยายามแก้ไขโดยการลดปริมาณความเข้มข้นของสาร $H_2(g)$ นี้ลง โดยทำปฏิกิริยากับ $I_2(g)$ ทำให้ความเข้มข้นของ HI เพิ่มขึ้น สมดุลจึงเลื่อนไปทางด้านขวามากขึ้น แต่ถ้าลดความเข้มข้น $H_2(g)$ และ $I_2(g)$ ระบบจะพยายามปรับให้สู่สภาวะสมดุลโดยเพิ่มการสลายตัวของ HI ให้กลายเป็น $H_2(g)$ และ $I_2(g)$ มากขึ้น ดังนั้นระบบจึงเลื่อนไปทางด้านซ้ายมือ

2. อุณหภูมิ

จากปฏิกิริยาสมดุลของ $N_2(g) + 3H_2(g) \rightleftharpoons 2NH_3(g) + \text{ความร้อน}$ ระบบจะเป็นแบบปฏิกิริยาคายความร้อน ถ้าจะให้สมดุลเลื่อนไปทางด้านซ้ายมือทำได้โดยการเพิ่มอุณหภูมิให้กับระบบจะทำให้ $NH_3(g)$ สลายตัวให้ $N_2(g)$ และ $H_2(g)$ มากขึ้น แต่ถ้าลดความร้อนให้แค่ระบบจะทำให้ $N_2(g)$ และ $H_2(g)$ รวมตัวกันให้ $NH_3(g)$ เพิ่มมากขึ้น สมดุลจึงเลื่อนไปทางด้านขวามือ

3. ความดัน

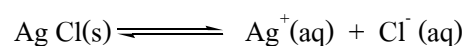
จากปฏิกิริยาสมดุลของ $2NO_2(g) \rightleftharpoons 2N_2(g) + 2O_2(g)$ เมื่อเพิ่มความดันให้กับระบบจะทำให้ $NO_2(g)$ สลายตัวได้น้อยลง แต่ถ้าจะให้ $N_2(g)$ และ $O_2(g)$ มีปริมาณเพิ่มขึ้นจะต้องทำการลดความดันให้แก่ระบบ

4. คะตะลิสต์

กะตะลิสต์ที่ใส่เข้าไปในปฏิกิริยานั้นไม่มีส่วนเปลี่ยนแปลงของระบบสมดุล แต่จะทำให้ปฏิกิริยาเข้าสู่สมดุลเร็วขึ้นเท่านั้น ค่าคงที่สมดุลจะมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงแม้ว่าจะมีตัวกะตะลิสต์อยู่ในปฏิกิริยาก็ตาม

สมดุลของการละลายของไอออนในน้ำ

ถ้านำเอาของแข็งที่ละลายน้ำได้น้อยมากมาละลายในน้ำ จะมี 2 ส่วนเกิดขึ้นคือ ส่วนแรกจะละลายได้น้อยมากซึ่งเป็นสารละลายอิ่มตัว ส่วนที่สองจะแตกตัวเป็นไอออนในสารละลายเกิดเป็นสภาวะสมดุลระหว่างของแข็งกับไอออนในสารละลาย ตัวอย่างสารละลายที่เป็นของแข็งได้แก่ $AgCl(s)$



ที่สมดุล

$$K = \frac{[Ag^+][Cl^-]}{[AgCl]}$$

เนื่องจาก $AgCl(s)$ ละลายได้น้อยมากในน้ำ ดังนั้น $AgCl(s)$ ซึ่งเป็นของแข็งจึงกำหนดให้มีค่าเท่ากับ 1 ดังนั้น

$$K_{sp} = [Ag^+][Cl^-]$$

ค่าคงที่ใหม่นี้เรียกว่า K_{sp} (Solubility product Constant) จะมีค่าเฉพาะที่อุณหภูมิของการทดลองนั้น ๆ ในการพิจารณาค่า Solubility product กับผลคูณของความเข้มข้นไอออนในสารละลายจึงได้ว่า
 [ผลคูณของความเข้มข้นไอออน] > K_{sp} ไอออนจะตกตะกอนลงมาจนได้ความเข้มข้นที่สมดุล
 [ผลคูณของความเข้มข้นไอออน] < K_{sp} ไอออนจะไม่ตกตะกอนลงมาและสามารถละลายต่อไปได้อีก แต่ถ้าสารนั้นละลายได้หมด ค่า K_{sp} จะไม่นำมาคิด

การทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์

- | | |
|--------------------|---------------------------------------|
| 1. หลอดทดลอง | 6. กระบอกตวง |
| 2. ที่วางหลอดทดสอบ | 7. หลอดหยด |
| 3. ปีกเกอร์ | 8. เทอร์โมมิเตอร์ |
| 4. แท่งแก้วคน | 9. น้ำแข็ง |
| 5. ขวดน้ำกลั่น | 10. เครื่องหมุนเหวี่ยง |
| | 11. เครื่องควบคุมความร้อน (hot plate) |

สารเคมี

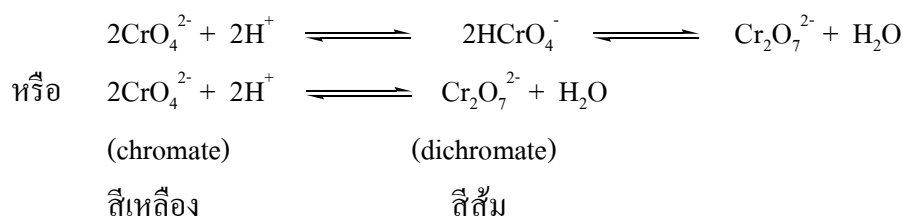
- | | |
|---|-----------------------|
| 1. สารละลายโพแทสเซียมโครเมต เข้มข้น 0.1 M | (0.1 M K_2CrO_4) |
| 2. สารละลายโคบอลต์(II)คลอไรด์ เข้มข้น 0.2 M | (0.2 M $CoCl_2$) |
| 3. สารละลายไอรอน(II)ไนเตรด เข้มข้น 0.1 M | (0.1 M $Fe(NO_3)_3$) |
| 4. สารละลายโพแทสเซียม ไทโอไซยาเนต เข้มข้น 0.1 M | (0.1 M $KSCN$) |
| 5. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 6 M | (6 M $NaOH$) |
| 6. สารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 6 M | (6 M H_2SO_4) |
| 7. กรดไฮโดรคลอริก แบบเข้มข้น | (HCl conc.) |

- | | |
|--|--|
| 8. สารละลายเลด(II) คลอไรด์ แบบอิ่มตัว | (PbCl ₂ sat.) |
| 9. สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เข้มข้น 1 M | (1 M CaCl ₂) |
| 10. สารละลายโซเดียมซัลเฟต เข้มข้น 1 M | (1 M Na ₂ SO ₄) |
| 11. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 6 M | (6 M HCl) |

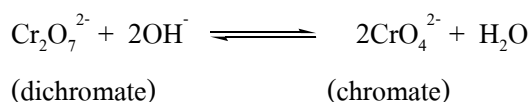
วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 ปฏิริยาสมดุลของสารละลายโครเมตไอออน (CrO₄²⁻) และไดโครเมต (Cr₂O₇²⁻)

1. นำหลอดทดสอบมา 1 หลอด ทำการหยดสารละลาย 1 M K₂CrO₄ จำนวน 1 mL ลงในหลอดทดสอบ จากนั้นหยดสารละลายกรด 6 M H₂SO₄ จำนวน 2-3 หยด บันทึกสีที่เปลี่ยนแปลงจากสารละลาย chromate เป็นสารละลาย dichromate ดังสมการ



2. เติมสารละลาย 6 M NaOH จำนวน 2-3 หยดลงในหลอดเดิมในข้อ 1 ทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงสีจากสารละลาย dichromate เป็นสารละลาย chromate



ตอนที่ 2 ปฏิริยาสมดุลของสารประกอบเชิงซ้อนของ Co (II) อีออน

1. ตวงสารละลาย 0.2 M CoCl₂ 8 mL ใส่ปิเปตเตอร์แล้วเติม HCl แบบเข้มข้นลงไป 5 mL ผสมให้เข้ากัน สารละลายที่ได้มีสีม่วง (ถ้าไม่เป็นสีม่วงให้เติมกรดที่ละหยดจนกว่าจะได้สีม่วง)

2. แบ่งสารละลายออกเป็น 3 หยด ๆ ละเท่า ๆ กัน

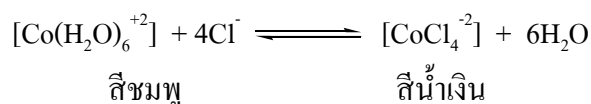
หลอดที่ 1 เติมน้ำร้อน (อุณหภูมิ 70 – 90 องศาเซลเซียส)

หลอดที่ 2 เติมน้ำแข็ง

หลอดที่ 3 วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

บันทึกผลการทดลองที่สังเกตได้

สารละลาย Co(II) ในน้ำ จะอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน (Complex ion) มีสูตร $[\text{Co(H}_2\text{O)}_6]^{2+}$ ซึ่งเป็นสารละลายสีชมพู เมื่อมี Cl^- อยู่ด้วย Cl^- จะเข้าไปแทนที่โมเลกุลของน้ำในสารเชิงซ้อนอย่างรวดเร็ว เกิดเป็นสารเชิงซ้อน $[\text{CoCl}_4]^{2-}$ ซึ่งมีสีน้ำเงิน และอยู่ในน้ำภาวะที่สมดุลกันดังสมการ



ตอนที่ 3 ปฏิกริยาของสมมูลของไทโอไซยาเนต – เหล็ก (III) อีออน

1. ใส่น้ำสารละลาย 0.1 M $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ จำนวน 10 หยด ผสมกับสารละลาย 0.1 M KSCN จำนวน 10 หยด ลงในบีกเกอร์ แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปอีก 20 mL ผสมให้ละลายเนื้อเดียวกัน
2. แบ่งสารละลายข้อ 1 ออกเป็น 4 หลอด ๆ ละ 5 mL

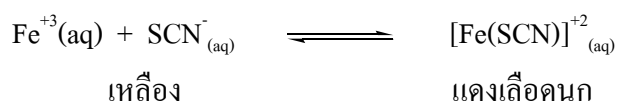
หลอดที่ 1 เติม 0.1 M $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ลงไป 3-5 หยด บันทึกผลการเปลี่ยนแปลง

หลอดที่ 2 เติม 0.1 M KSCN ลงไป 3-5 หยด บันทึกผลการเปลี่ยนแปลง

หลอดที่ 3 เติม 6 M NaOH ลงไป 3-5 หยด บันทึกผลการเปลี่ยนแปลง

(ถ้าได้ตะกอนเกิดขึ้นบนที่ก้นของตะกอนด้วย)

หลอดที่ 4 ไม่เติมสารใด ๆ เก็บไว้เพื่อเปรียบเทียบกับหลอดที่ 1 – 3



ตอนที่ 4 สมดุลของการละลายของไอออน

1. นำหลอดทดสอบมา 1 หลอด ทำการหยดสารละลาย 1 M CaCl_2 จำนวน 3 mL และสารละลาย 1 M Na_2SO_4 จำนวน 2 mL ลงในหลอดทดสอบตามลำดับพร้อมคนให้ทั่ว จากนั้นนำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง จะสังเกตได้โดยส่วนของน้ำใสอยู่ส่วนบน และส่วนของตะกอนอยู่ส่วนล่างของหลอดทดสอบ

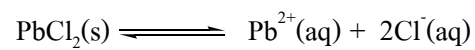
2. นำหลอดทดสอบใหม่มา 2 หลอด ทำการดูดสารละลายส่วนที่เป็นน้ำให้แห้งตกตะกอนจากหลอดทดสอบในข้อ 1 มาใส่ลงในหลอดทดสอบใหม่โดยให้มีปริมาตรเท่ากันทั้งสองหลอด นำหลอดแรกหยดสารละลาย CaCl_2 จำนวน 4-5 หยด และหลอดที่ 2 หยดสารละลาย Na_2SO_4 จำนวน 4-5 หยดเช่นกัน สังเกตและบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงทั้งสองหลอด

ตอนที่ 5 สมดุลเคมีของสารละลายอิ่มตัว

1. บรรจุสารละลายอิ่มตัวของ PbCl_2 จำนวน 1 mL ลงในหลอดทดลอง เดิมกรด 6 M HCl 1 หยด ลงไปในหลอด สังเกตและบันทึกผล

2. นำมาอุ่นในวอเตอร์บาธจนได้สารละลายใส แล้วทำให้เย็นโดยแช่หลอดทดลองในน้ำประปา สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกผล

สารละลายอิ่มตัวของ PbCl_2 เมื่อสมดุล เขียนสมการได้ดังนี้



บันทึกผลการทดลอง

รายงานการปฏิบัติการเรื่อง.....

ชื่อผู้ทำการทดลอง

1.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

2.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

3.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

วันที่ทำการทดลอง.....

อาจารย์ผู้ควบคุม

1.....

2.....

วัตถุประสงค์

1.....

2.....

3.....

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 ปฏิริยาสมดุลของสารละลายโครเมตไอออน (CrO_4^{2-}) – ไดโครเมตไอออน ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$)

หลอดที่	สารที่เติม	สีของสารละลาย สีเดิม $\longrightarrow$ สีใหม่	ทิศทางของปฏิริยา
1	$\text{K}_2\text{CrO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$		
2	$\text{K}_2\text{CrO}_4 + \text{NaOH}$		

ตอนที่ 2 ปฏิริยาสมดุลของสารประกอบเชิงซ้อน Co (II) ไอออน

หลอดที่	อุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$)	สีของสารละลาย สีเดิม $\longrightarrow$ สีใหม่	ทิศทางของปฏิริยา
1	0		
2	70-79		
3	ห้อง		

ตอนที่ 3 ปฏิริยาของสมดุของไทโอไซยานต – เหล็ก (III) อีออน

หลอดที่	สารที่เติม	สีของสารละลาย สีเดิม → สีใหม่	ทิศทางของ สมดุลใหม่	เหตุผลของการ เปลี่ยนแปลง
1	$\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$			
2	KSCN			
3	6 M NaOH			

ตอนที่ 4 สมดุลของการละลายของไอออน

ข้อมูล	สังเกตตะกอนที่เกิดขึ้น
หลอดที่ 1 เติม CaCl_2 หลอดที่ 2 เติม Na_2SO_4	

ตอนที่ 5 สมดุลเคมีของสารละลายอิมตัว

ผลการเปลี่ยนแปลง	ทิศทางของปฏิกิริยา
1. เมื่อเติม HCl	
2. เมื่อเติม NaOH	

คำถามท้ายการทดลอง

1. ทิศทางสมดุลของโครเมตไอออน (CrO_4^{2-}) – ไดโครเมตไอออน ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) เมื่อเติม 6 M ของ H_2SO_4 และ 6 M ของ NaOH เป็นไปในทางเดียวกันหรือไม่ เพราะเหตุใดจึงเป็นเช่นนั้น
2. จากการทดลองจงพิจารณาว่า ปฏิกิริยา $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+} + 4\text{Cl}^- \rightleftharpoons [\text{CoCl}_4]^{2-} + 6\text{H}_2\text{O}$ เป็นปฏิกิริยาชนิดดูดหรือคายความร้อน
3. อธิบายผลของปฏิกิริยาระหว่าง CaCl_2 และ Na_2SO_4

4. จากสมการแตกตัวของ CaCl_2 และ CaSO_4 ในน้ำ อธิบายผลของ common ion มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสถานะสมดุลอย่างไรเมื่อ
 - 4.1 ถ้าเติม CaCl_2 ลงในสารละลายอิ่มตัวของ CaSO_4 จะเป็นอย่างไร
 - 4.2 ถ้าเติม Na_2SO_4 ลงในสารละลายอิ่มตัวของ CaSO_4 จะเป็นอย่างไร
5. จากการทดลองเพื่อศึกษาสมดุลของสารละลายอิ่มตัวของ PbCl_2 เมื่อเติม HCl และ NaOH ลงไปจะกระทบกระเทือนต่อสมดุลเคมีหรือไม่ เพราะเหตุใด

บทที่ 9

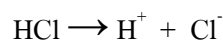
การหาค่า pH ของสารละลาย อินดิเคเตอร์และปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

วัตถุประสงค์

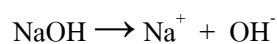
1. เพื่อฝึกการเตรียมสารละลายที่มี pH ต่าง ๆ กัน
2. เพื่อศึกษาการใช้อินดิเคเตอร์แต่ละตัว และเครื่องวัด pH ในการหาค่า pH ของสารละลายกรดแก่และกรดอ่อน
3. เพื่อศึกษาคุณสมบัติของปฏิกิริยาการไฮโดรไลซิสของเกลือชนิดต่าง ๆ

บทนำ

กรด คือสารละลายซึ่งเมื่อละลายน้ำแล้วให้ไฮโดรเจนไอออน (H^+) ความแรงของกรดขึ้นอยู่กับ การแตกตัวของไฮโดรเจนไอออน ถ้าแตกตัวแล้วไฮโดรเจนไอออนมากเรียกว่ากรดแก่ เช่น



เบส คือสารละลายซึ่งเมื่อละลายน้ำแล้วให้ไฮดรอกไซด์ไอออน (OH^-) ดังนั้นความแรงของเบสขึ้นอยู่กับ การแตกตัวของไฮดรอกไซด์ไอออน ถ้าแตกตัวแล้วไฮดรอกไซด์ไอออนมากเรียกว่าเบสแก่ เช่น



อย่างไรก็ตามผลคูณของไอออนบวกและไอออนลบนี้จะมีค่าคงที่เสมอเท่ากับ 10^{-14} ในกรณีของน้ำบริสุทธิ์ ซึ่งถือว่าเป็นกลางสามารถแตกตัวได้ดังนี้ $H_2O \rightleftharpoons H^+ + OH^-$ ดังนั้นความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนเท่ากับไฮดรอกไซด์ไอออนเท่ากับ 10^{-7} โมลาร์ (โมล/ลิตร) ฉะนั้นสารละลายที่เป็นกลางจะมีค่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนเท่ากับ 10^{-7} โมลาร์ ถ้าสารละลายมีค่าไฮโดรเจนไอออนมากกว่า 10^{-7} โมลาร์ สารละลายจะแสดงความเป็นกรด และถ้าความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนน้อยกว่า 10^{-7} โมลาร์ สารละลายจะแสดงความเป็นเบส

Sorensen กล่าวว่าพีเอช (pH) ใช้อธิบายความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนโดยกำหนดค่า pH ดังนี้

$$pH = -\log [H^+]$$

ดังนั้นสารละลายที่เป็นกลางจะมี $pH = -\log[10^{-7}] = 7$ หรือถ้าสารละลายมีค่าความเข้มข้นของ $[H^+]$ เท่ากับ 10^{-3} M จะมีค่า pH เท่ากับ 3 ดังนั้นความสัมพันธ์ระหว่างความแรงของกรดและ

เบสจะมีการเปลี่ยนแปลงเป็น 10 เท่าต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH เพียง 1 หน่วยเสมอ เช่น ถ้าสารละลายที่มีค่า pH เท่ากับ 2 จะมีความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนแตกต่างจากสารละลายที่มีค่า pH 3 อยู่ถึง 10 เท่า หรือแตกต่างจากสารละลายที่มีค่า pH 4 อยู่ถึง 100 เท่า ดังนั้นความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ต่อสารละลายที่แสดงความเป็นกรดและเบส คือ

สารละลายที่มีค่า pH สูง จะแสดงความเป็นเบส

สารละลายที่มีค่า pH ต่ำ จะแสดงความเป็นกรด

การบอกความเป็นเบสในสารละลายอาจใช้ pOH ได้เช่นเดียวกับค่า pH ในสารละลายดังนี้

$$\text{pOH} = -\log [\text{OH}^-]$$

เนื่องจาก $\text{pH} + \text{pOH} = 14$

หรือ $\text{pOH} = 14 - \text{pH}$

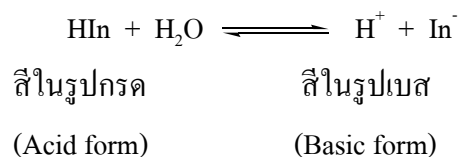
ตารางที่ 9.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง pH กับความเข้มข้นของ $[\text{H}^+]$ และ $[\text{OH}^-]$

$[\text{H}^+]$	pH	$[\text{OH}^-] = \frac{1 \times 10^{-14}}{[\text{H}^+]}$
กรด $10^0 = 1$	0	10^{-14}
$10^{-1} = 0.1$	1	10^{-13}
$10^{-2} = 0.01$	2	10^{-12}
$10^{-3} = 0.001$	3	10^{-11}
$10^{-4} = 0.0001$	4	10^{-10}
$10^{-5} = 0.00001$	5	10^{-9}
$10^{-6} = 0.000001$	6	10^{-8}
กลาง $10^{-7} = 0.0000001$	7	10^{-7}
$10^{-8} = 0.00000001$	8	10^{-6}
$10^{-9} = 0.000000001$	9	10^{-5}
$10^{-10} = 0.0000000001$	10	10^{-4}
$10^{-11} = 0.00000000001$	11	10^{-3}
$10^{-12} = 0.000000000001$	12	10^{-2}
$10^{-13} = 0.00000000000001$	13	10^{-1}
เบส $10^{-14} = 0.000000000000001$	14	10^0

การหาค่า pH

ในห้องปฏิบัติการนั้น เราสามารถหาค่า pH ของสารละลายได้ 2 วิธี คือ

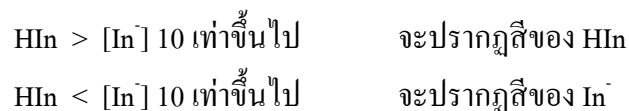
1. โดยใช้อินดิเคเตอร์ (Indicator) เพื่อหาค่า pH โดยประมาณ อินดิเคเตอร์เป็นตัวบ่งชี้จากการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้น สารอินดิเคเตอร์เป็นสารอินทรีย์ที่มีฤทธิ์เป็นทั้งกรดอ่อนและเบสอ่อน ซึ่งมีคุณสมบัติเปลี่ยนแปลงสีได้เมื่อค่า pH ของสารละลายเปลี่ยน สารอินดิเคเตอร์เป็นสาร amphiprotic substance คือ สามารถรับหรือให้โปรตอนเช่น phenolphthalein พบว่าไม่มีสีเมื่ออยู่ในสารละลายที่เป็นกรดและจะแตกตัวให้แอนไอออนสีชมพูเมื่ออยู่ในสารละลายที่เป็นเบส หรือ methyl orange ในสารละลายเบสจะมีสีเหลืองและจะรวมตัวกับโปรตอนเกิดเป็นแคทไอออนให้สีแดง ถ้าไม่คิดถึงประจุสมดุลของอินดิเคเตอร์สามารถแตกตัวได้ดังนี้



$$\text{ค่าคงที่ของการแตกตัว} \quad (\text{KIn}) = \frac{[\text{H}^+][\text{In}^-]}{[\text{HIn}]}$$

ตัวอย่างอินดิเคเตอร์ชนิด methyl orange จะให้สีแดงเมื่อสารละลาย pH ต่ำกว่า 3.1 และให้สีเหลืองเมื่อสารละลาย pH สูงกว่า 4.4 แต่ถ้าค่า pH อยู่ระหว่าง 3.1-4.4 จะให้สีเหลืองปนแดง นั่นคือการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์จะขึ้นอยู่กับค่า pH ในสารละลายโดยจะเป็นตัวควบคุมปริมาณของ HIn และ In⁻ ทำให้สารละลายมีสีต่าง ๆ คือ

1. เมื่อเพิ่ม H⁺ ลงในสารละลาย จะทำให้ระบบมีปริมาณของ H⁺ เพิ่มขึ้นหรือค่า pH ต่ำลง ซึ่งทำให้ค่าสมดุลของระบบเปลี่ยนไป ดังนั้นระบบจะจัดตัวให้เข้าสู่สมดุลโดยการเปลี่ยนจากขวาไปซ้าย ทำให้ค่าของ HIn เพิ่มขึ้น จะปรากฏสีของ HIn อย่างเดียว
2. เมื่อเพิ่ม OH⁻ ลงในสารละลาย จะทำให้ระบบมีปริมาณของ H⁺ ลดลง หรือค่า pH เพิ่มขึ้นซึ่งทำให้ค่าสมดุลของระบบเปลี่ยนไป ดังนั้นระบบจะจัดตัวให้เข้าสู่สมดุลโดยการเปลี่ยนจากซ้ายไปขวา ทำให้ค่าของ In⁻ เพิ่มขึ้น จะปรากฏสีของ In⁻ อย่างเดียว



ช่วง pH ของสารละลายที่ทำให้สารอินดิเคเตอร์เปลี่ยนจากสีหนึ่งไปเป็นอีกสีหนึ่งเรียกว่า ช่วง pH ของสารอินดิเคเตอร์ ส่วนสารอินดิเคเตอร์สากล (Universal indicator) ได้จากการนำเอาสารอินดิเคเตอร์หลายชนิดมาผสมกัน ซึ่งจะสามารถแสดงค่า pH ของสารละลายในช่วงต่าง ๆ ได้ดีกว่า

การเลือกใช้สารอินดิเคเตอร์

1. การไทเทรตของกรดแก่และเบสแก่ เมื่อถึงจุดยุติของการไทเทรต จะได้สารละลายเป็นกลาง อินดิเคเตอร์ที่ใช้ควรเป็นชนิดที่เปลี่ยนสีในช่วง pH ที่เป็นกลางซึ่งได้แก่ bromothymol blue
2. การไทเทรตของกรดแก่และเบสอ่อน เมื่อถึงจุดยุติของการไทเทรต จะได้สารละลายเป็นกรด อินดิเคเตอร์ที่ใช้ควรเป็นชนิดที่เปลี่ยนสีในช่วง pH ที่เป็นกรดซึ่งได้แก่ methyl orange
3. การไทเทรตของกรดอ่อนและเบสแก่ เมื่อถึงจุดยุติของการไทเทรต จะได้สารละลายเป็นเบส อินดิเคเตอร์ที่ใช้ควรเป็นชนิดที่เปลี่ยนสีในช่วง pH ที่เป็นเบสซึ่งได้แก่ phenol red หรือ phenolphthalein

ประโยชน์ของอินดิเคเตอร์มีดังนี้ วัดความเป็นกรดหรือเป็นเบส ทดสอบการไฮโดรไลซิสของเกลือ นอกจากนี้ยังบอกจุดยุติของการไทเทรชัน

ตารางที่ 9.2 กรด เบส อินดิเคเตอร์แสดงการเปลี่ยนสี

อินดิเคเตอร์	ช่วง pH ที่เปลี่ยน	สีที่เปลี่ยน	
		กรด	เบส
Thymol blue	1.2-2.8	แดง	เหลือง
Methyl yellow	2.9-4.0	แดง	เหลือง
Methyl orange	3.1-4.4	แดง	เหลือง
Methyl red	4.4-6.2	แดง	เหลือง
Bromocresol purple	5.2-6.8	เหลือง	น้ำเงิน
Bromothymol blue	6.0-7.6	เหลือง	น้ำเงิน
Phenol red	6.4-8.2	เหลือง	แดง
Phenolphthalein	8.3-10.0	ไม่มีสี	ชมพู
Alizarin yellow	10.0-12.1	เหลือง	น้ำตาลแดง

2. โดยการใช้เครื่องวัด pH (pH meter) เพื่อหาค่า pH ที่แน่นอน

ปัจจุบันนี้ในห้องปฏิบัติการที่ทันสมัยมักจะมีเครื่องวัด pH ไว้สำหรับวัด pH ที่มีค่าแน่นอนของสารละลาย เครื่องมือนี้ประกอบด้วย glass electrode ซึ่งทำหน้าที่เป็น indicator electrode กับ saturated calomel electrode ซึ่งทำหน้าที่เป็น reference electrode หรือใช้แบบ combined electrode คือมีทั้ง glass electrode และ saturated calomel electrode อยู่รวมเป็นขั้วเดียวกัน ขั้วไฟฟ้าทั้งคู่นี้ต่ออยู่กับตัวเครื่องวัด pH และจุ่มอยู่ในสารละลายที่เราต้องการวัด



เครื่องวัด pH

(ที่มา: http://nano-machinery.com/catalog/products_new.php/language/th/page/3)

ในการที่จะวัด pH ของสารละลายใด ๆ จะต้องปรับเครื่องให้อ่าน pH ตรงกันกับสารละลายที่รู้ค่า pH แน่แน่นอน โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์อันนี้เรียกว่าทำ calibration หรือ standardization ของเครื่องวัด pH จากนั้นจึงนำไปวัดค่า pH ของสารละลายตัวอย่าง โดยจุ่มอิเล็กโทรดลงในสารละลาย แล้วอ่านค่า pH ออกมาได้โดยตรงจากสเกล (scale) บนหน้าปัดของเครื่องวัด pH ค่า pH ที่อ่านจะเป็นค่าที่ถูกต้องและแม่นยำมากกว่าการใช้อินดิเคเตอร์

ไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

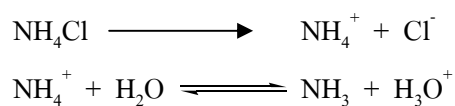
ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เป็นปฏิกิริยาที่ไอออนของเกลือที่แตกตัวในน้ำอาจทำให้สารละลายของเกลื่อนั้นแสดงคุณสมบัติเป็นกรด เบส หรือเป็นกลาง ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของเกลือเหล่านั้น ชนิดประเภทของไฮโดรไลซิสของเกลือสามารถแบ่งออกเป็น 4 ประเภทคือ

1. สารละลายของเกลือที่เกิดจากกรดอ่อนและเบสอ่อน

สารละลายของเกลื่อนี้เมื่อนำมาละลายน้ำจะแสดงความเป็นเบสที่ pH มากกว่า 7 หรือเป็นกลาง เกลือประเภทนี้ได้แก่ $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ หรือ NH_4CN

2. สารละลายของเกลือที่เกิดจากกรดแก่และเบสอ่อน

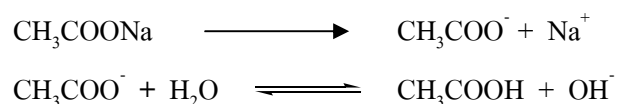
สารละลายของเกลื่อนี้เมื่อนำมาละลายน้ำจะแสดงความเป็นกรด เกลือประเภทนี้ได้แก่ NH_4Cl ซึ่งเป็นเกลือของกรดแก่คือ HCl และเบสอ่อนคือ NH_4OH



เนื่องจาก NH_4^+ ให้โปรตอนแก่ H_2O ได้ ทำให้ค่า OH^- ในสารละลายลดลงจึงทำให้ความเข้มข้นของ H^+ ในสารละลายเพิ่มขึ้น สารละลายมี H^+ มากจึงแสดงความเป็นกรด

3. สารละลายของเกลือที่เกิดจากกรดอ่อนและเบสแก่

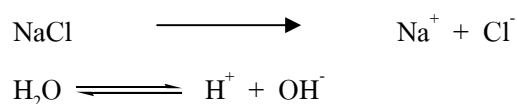
สารละลายของเกลือชนิดนี้เมื่อนำมาละลายน้ำจะแสดงความเป็นเบส เกลือประเภทนี้ได้แก่ CH_3COONa ซึ่งเป็นเกลือของกรดอ่อนของ CH_3COOH และเบสแก่ของ NaOH



ค่า H^+ จากน้ำสามารถรวมตัวกับ CH_3COO^- จึงทำให้ความเข้มข้นของ H^+ ในสารละลายลดลง ทำให้ความเข้มข้นของ OH^- เพิ่มขึ้น สารละลายมีค่า pH มากกว่า 7 จึงแสดงความเป็นเบส

4. สารละลายของเกลือที่เกิดจากกรดแก่และเบสแก่

สารละลายของเกลือชนิดนี้เมื่อนำมาละลายน้ำจะแสดงค่า pH เท่ากับ 7 หรือเป็นกลาง เกลือประเภทนี้ได้แก่ NaCl KCl และ Na_2SO_4



ไอออนของเกลือเหล่านี้เมื่อแตกตัวแล้วไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มข้นของ H^+ และ OH^- ในสารละลาย ดังนั้นจึงแสดงค่า pH เท่ากับ 7 เนื่องจาก NaCl สามารถแตกตัวได้ Na^+ และ Cl^- ได้หมดจึงไม่ไปรบกวนปริมาณของ H^+ และ OH^- ในสารละลาย

การทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์

- | | |
|--------------------|------------------------|
| 1. หลอดทดสอบ | 5. กระบอกตวงน้ำกลั่น |
| 2. ที่วางหลอดทดสอบ | 6. ปีกเกอร์ ขนาด 50 mL |
| 3. หลอดหยดสารละลาย | 7. เครื่องวัด pH |
| 4. แท่งแก้วคนสาร | 8. เครื่องชั่ง |

สารเคมี

- | | |
|--|---|
| 1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 M | (0.1 M NaOH) |
| 2. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 0.1 M | (0.1 M HCl) |
| 3. สารละลายกรดแอสติก เข้มข้น 0.1 M | (0.1 M CH ₃ COOH) |
| 4. สารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ เข้มข้น 0.5 M | (0.5 M NH ₄ Cl) |
| 5. สารละลายโซเดียมไนเตรด เข้มข้น 0.5 M | (0.5 M NaNO ₃) |
| 6. สารละลายโซเดียมแอซิเตท เข้มข้น 0.5 M | (0.5 M NaOAc) |
| 7. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้น 0.5 M | (0.5 M NaCl) |
| 8. สารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต เข้มข้น 0.5 M | (0.5 M NaH ₂ PO ₄) |
| 9. สารละลายโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต เข้มข้น 0.5 M | (0.5 M NaHPO ₄) |
| 10. Thymol blue | 14. Phenolphthalein |
| 11. Phenol red | 15. Bromothymol blue |
| 12. Methyl orange | 16. Universal indicator |
| 13. Methyl red | |

วิธีการทดลอง

แบ่งออกเป็น 3 ตอน

ตอนที่ 1 เตรียมสารละลาย pH 1 ถึง 13 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนสีของ Universal Indicator

1.1 ให้นักศึกษากลุ่มหนึ่ง (2 คน) เตรียมสารละลาย pH 1 ถึง 7 อีกกลุ่มหนึ่งเตรียมสารละลาย pH 8 ถึง 13 โดยนักศึกษาทั้ง 2 กลุ่มตกลงกันเอง แล้วนำมาใช้ร่วมกัน เพื่อให้มี pH ครบ 1 ถึง 13

1.2 เขียนหมายเลข 1, 2, 3.....บนฉลาก เพื่อติดบนหลอดทดลองขนาด 10 mL

1.3 ตวงสารละลายกรด 0.1 M HCl ($\text{pH} = 1$) ด้วยกระบอกตวงมา 3 mL ใส่ลงในหลอดทดลองหมายเลข 1

1.4 เตรียมสารละลาย pH 2, 3,...6 ได้ดังนี้

ปิเปตสารละลายกรด 0.1 M HCl ($\text{pH} = 1$) มา 5 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL แล้วเติมน้ำกลั่นลงในขวดวัดปริมาตรจนถึงขีดบอกริมาตร เขย่า จะได้สารละลาย $\text{pH} = 2$ เทใส่บีกเกอร์ ขนาด 50 mL แล้วรินใส่ในหลอดทดลอง 3 mL (วิธีเตรียมสารละลายที่มี pH ต่างกัน 1 หน่วย pH โดยการทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 10 เท่านี้ เรียกว่า ten-fold dilution)

ถ้าต้องการเตรียมสารละลายที่มี $\text{pH} = 3$ ก็นำสารละลายที่เตรียมได้ ($\text{pH} = 2$) มาทำ ten-fold dilution ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL ต่อ ทำเช่นนี้ไปเรื่อย ๆ จนถึง $\text{pH} = 6$

1.5 $\text{pH} = 7$ ให้ใช้น้ำกลั่น

1.6 เตรียมสารละลาย pH 8, 9,...13 ได้ดังนี้

ปิเปตสารละลาย 0.1 M NaOH ($\text{pH} = 13$) มาทำ ten-fold dilution คือ ปิเปตสารละลาย 0.1 M NaOH มา 5 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL แล้วเติมน้ำกลั่นลงในขวดวัดปริมาตรจนถึงขีดบอกริมาตร เขย่า จะได้สารละลาย $\text{pH} = 12$ แล้วนำไปเตรียมสารละลายที่มีค่า $\text{pH} = 11, 10, 9, 8$ โดยทำนองเดียวกับข้างต้นที่กล่าวมา

1.7 นำสารละลายที่มี pH 1-13 มาหยด Universal indicator หลอดละ 2 หยด สังเกตสีบันทึกผลการทดลอง

ตอนที่ 2

2.1 ศึกษาช่วงการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ และการวัด pH ของสารละลายกรดแก่และกรดอ่อน

pH ของสารละลายกรดเกลือ (HCl)

2.1.1 นำหลอดทดลองขนาด 10 mL มา 3 หลอด เขียนฉลาก 1, 2, 3 ติดไว้รินสารละลายกรด HCl ที่มีค่า pH 1, 2, 3 ลงไปในหลอดทั้ง 3 ตามลำดับ หลอดละ 3 mL แล้วหยดอินดิเคเตอร์ thymol blue ลงไปหลอดละ 2 หยด เขย่าให้เข้ากัน แล้วสังเกตสี จดบันทึกผลการทดลองในสมุดเก็บสารละลายในหลอดทั้ง 3 ไว้

2.1.2 ทำเช่นเดียวกับข้อ 2.1.1 แต่เปลี่ยนอินดิเคเตอร์เป็น methyl orange

2.1.3 รินสารละลายกรดตัวอย่าง 3 mL ใส่ในหลอดทดลองขนาด 10 mL แล้วหยด thymol blue ลงไป 2 หยด เขย่า สังเกตสีที่เกิดขึ้น นำไปเปรียบเทียบกับสีของสารละลายกรดที่เตรียมไว้แล้วซึ่งทราบค่า pH (กรดมาตรฐาน)

2.1.4 ทำเช่นเดียวกับข้อ 2.1.3 แต่เปลี่ยนอินดิเคเตอร์เป็น methyl orange

หลังจากเปรียบเทียบสีของสารละลายกรดตัวอย่างกับกรดมาตรฐานแล้ว จดค่า pH โดยประมาณของสารละลายกรดตัวอย่างลงในสมุดบันทึก ส่วนค่า pH ที่แท้จริงของกรดตัวอย่างจะวัดได้จากเครื่องวัด pH (นักศึกษาไม่ต้องวัดเอง)

เทสารละลายกรดมาตรฐานในหลอดแก้วทั้งหมดทิ้งไป ล้างหลอดแก้วให้สะอาดเพื่อจะได้ใช้ในการทดลองต่อไป

2.2 ศึกษาช่วงการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์และการวัด pH ของสารละลายกรดอ่อน

สารละลายกรดแอซติก (CH_3COOH)

2.2.1 นำหลอดทดลองขนาด 10 mL มา 4 หยอด รินสารละลาย 0.1 M CH_3COOH ลงไปหลอดละ 3 mL แล้วหยดอินดิเคเตอร์ลงในหลอดทั้ง 4 หลอดๆ ละ 2 หยดดังนี้

หลอดที่ 1 thymol blue

หลอดที่ 2 methyl orange

หลอดที่ 3 methyl red

หลอดที่ 4 bromothymol blue

2.2.2 เขย่าสารละลายให้เข้ากัน แล้วบันทึกการเปลี่ยนแปลงสีของกรดแอซติกในอินดิเคเตอร์ทั้งสี่ชนิด และจดค่า pH ที่อ่านได้ โดยประมาณลงในสมุดบันทึก ส่วนค่า pH ที่แท้จริงของกรดอ่อน จะวัดได้จากเครื่องวัด pH

ตอนที่ 3 ปฏิริยาไฮโดรไลซิสของเกลือ

3.1 การวัด pH ของสารละลายในน้ำ (aqueous solution) ของเกลือต่าง ๆ โดยใช้เครื่องวัด pH

3.1.1 วัด pH ของสารละลายเข้มข้น 0.5 M ของเกลือต่อไปนี้



แล้วอธิบายผลที่ได้จากการทดลองว่าทำเกลือเหล่านี้บางตัวละลายน้ำแล้วจึงให้สารละลายเป็นกรด เป็นกลาง หรือเป็นเบส โดยใช้หลักการแตกตัวของแคตไอออนหรือแอนไอออนของเกลื่อดังกล่าวในน้ำ พร้อมทั้งเขียนปฏิกิริยาเคมีประกอบคำอธิบายด้วย

ตอนที่ 2

2.1 ศึกษาช่วงการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ และการวัด pH ของสารละลายกรดแก่และกรดอ่อน pH ของสารละลายกรดเกลือ (HCl)

pH ของ sol	thymol blue	methyl orange
1		
2		
3		
สารละลายกรดตัวอย่าง		

ค่า pH ของกรดตัวอย่างคิดตามทฤษฎีจากอินดิเคเตอร์ =

ค่า pH ของกรดตัวอย่างรายงานผล =

2.2 ศึกษาช่วงการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์และการวัด pH ของสารละลายกรดอ่อน สารละลายกรดอะซิติก (CH_3COOH)

	T.B.	M.O.	M.R.	B.B.
0.1 M CH_3COOH				

ค่า pH ของกรดอ่อนคิดตามทฤษฎีจากอินดิเคเตอร์ =

ค่า pH ของกรดอ่อนรายงานผล =

ตอนที่ 3 ปฏิริยาไฮโดรไลซิสของเกลือ

3.1 การวัด pH ของสารละลายในน้ำ (aqueous solution) ของเกลือต่าง ๆ โดยใช้เครื่องวัด pH

3.1 สารละลาย NaNO_3 pH =

3.2 สารละลาย NaCl pH =

3.3 สารละลาย NaOAc pH =

3.4 สารละลาย NH_4Cl pH =

3.5 สารละลาย NaH_2PO_4 pH =

3.6 สารละลาย Na_2HPO_4 pH =

จงอธิบายผลการทดลองตอนที่ 3 มาพอเข้าใจ

.....

.....

.....

.....

.....

.....

คำถามท้ายการทดลอง

1. จงหาค่า $[H^+]$ และ $[OH^-]$ ของสารละลายที่มี $pH = 5$ ที่ $25^\circ C$
2. สารที่มี $pH = 2$ และ $pH = 6$ ชนิดใดที่มีปริมาณของ $[H^+]$ มากกว่ากัน และมากกว่าเป็นปริมาณเท่าใด
3. สารละลาย $NaOH$ ที่มี $pH = 11$ จะมีปริมาณ $[OH^-]$ เท่าใด
4. ถ้านำสารละลาย $0.01 M NH_4OH$ ไปละลายน้ำ ควรทดสอบด้วยอินดิเคเตอร์ชนิดใดจึงทราบค่า pH ที่ใกล้เคียงความจริงมากที่สุด อธิบายหลักการและเหตุผลประกอบ (กำหนด K_b ของ $NH_4OH = 1.8 \times 10^{-5}$)

บทที่ 10

สารละลายบัฟเฟอร์

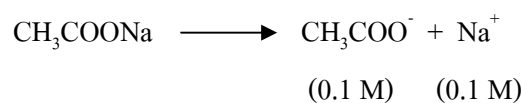
วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาคุณสมบัติของสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีผลต่อการควบคุมระดับค่า pH ในสารละลาย
2. ฝึกทักษะการทดลอง

บทนำ

สารละลายบัฟเฟอร์ คือสารละลายที่สามารถรักษาระดับค่า pH ของสารละลายไว้ได้เกือบคงที่เสมอไม่ว่าจะเพิ่มปริมาณกรดหรือเบส สารละลายบัฟเฟอร์จะประกอบด้วยกรดอ่อนและเกลือของกรดอ่อน หรือเบสอ่อนกับเกลือของเบสอ่อน เช่น สารละลายกรดอ่อนคือกรดแอซีติก (CH_3COOH) และเกลือของกรดอ่อนคือ โซเดียมแอซีเตต (CH_3COONa) ในการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ทำได้โดยการไทเทรตหรือใช้สมการของ Henderson-Hasselbalch equation ซึ่งจะบอกความสัมพันธ์ของการแตกตัวของกรดอ่อนกับค่า pK_a ของกรดอ่อน ในสภาพ pH ต่าง ๆ เช่น ในการคำนวณหา pH ของสารละลายผสมของ 0.1 M กรดแอซีติกกับ 0.1 M โซเดียมแอซีเตต จะหาได้ดังนี้

โซเดียมแอซีเตต (CH_3COONa) จะแตกตัวได้หมดให้ $\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{Na}^+$ อย่างละ 0.1 M กำหนดให้ n เป็นส่วนของกรดแอซีติก (CH_3COOH) ที่แตกตัวให้ H^+ และ CH_3COO^-



ดังนั้น $[\text{CH}_3\text{COO}^-] = 0.1 + n$

และ $[\text{CH}_3\text{COOH}] = 0.1 - n$

กำหนดให้ค่าคงที่ (K_a) ของการแตกตัวของกรดแอซีติก $= 1.8 \times 10^{-5}$ ดังนั้น pK_a ของ CH_3COOH
 $= -\log(1.8 \times 10^{-5}) = 4.76$ จากสมการของ Henderson-Hasselbalch equation จะได้ว่า

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]}$$

$$\text{pH} = 4.76 + \log \frac{[0.1 + n]}{[0.1 - n]}$$

เนื่องจากค่า n มีค่าน้อยมาก (ประมาณ 1.8×10^{-5}) เมื่อเทียบกับ 0.1 M จึงไม่นำมาคิด ดังนั้น

$$\text{pH} = 4.76 + \log \frac{[0.1]}{[0.1]}$$

$$\text{pH} = 4.76$$

นั่นคือ สารละลายผสมของกรดอ่อนกับเกลือของกรดอ่อน ในปริมาณโมลาร์ที่เท่ากันจะมีค่า pH เท่ากับ pK_a ของกรดอ่อนนั้น ถ้าเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของกรดหรือไฮโดรเจนไอออน (H^+) ลงในสารละลายนี้เป็น 0.01 M ค่าไฮโดรเจนไอออนที่เกินมาจะรวมตัวกับแอซิเตทให้กลายเป็นกรดแอซิดิก ดังนั้นความเข้มข้นของ CH_3COONa จะลดลงเป็น $0.1 - 0.01$ เท่ากับ 0.09 M และ CH_3COOH จะเพิ่มเป็น $0.1 + 0.01$ เท่ากับ 0.11 M ค่า pH ของสารละลายจะเปลี่ยนไปเป็น

$$\text{pH} = 4.76 + \log \frac{[0.09]}{[0.11]} = 4.67$$

จะเห็นว่าค่า pH ในสารละลายจะลดลงจาก 4.76 เป็น 4.67 ซึ่งลดลงจากเดิมไป 0.09 เท่านั้น ถ้าเติมเบสหรือไฮดรอกไซด์ไอออน (OH^-) ลงในสารละลายแอซิเตทบัฟเฟอร์ค่า pH จะเพิ่มเป็น $4.76 + 0.09 = 4.85$ โดยทั่วไปช่วงของบัฟเฟอร์ที่มีประโยชน์จะอยู่ระหว่างค่า $\text{pK}_a + 1$ ถึง $\text{pK}_a - 1$ ดังนั้นจึงเลือกค่า pK_a ให้เหมาะสมสำหรับช่วง pH ในการทำสารละลายบัฟเฟอร์ ถ้ากรดที่มีการแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออนได้หลายไอออน (Polyprotic acid) เช่น กรดฟอสฟอริก (H_3PO_4) จะให้สารละลายบัฟเฟอร์ได้ดีที่ pH ประมาณ 2, 7 และ 12 ซึ่งเป็นค่า pK_a ของกรดนี้ ตามตารางข้างล่างนี้

ตารางที่ 10.1 การแตกตัวของ Polyprotic acid กับค่า pKa ของกรด

กรด	pKa	การแตกตัว
Formic acid	3.37	$\text{HCOOH} = \text{H}^+ + \text{HCOO}^-$
Acetic acid	4.76	$\text{CH}_3\text{COOH} = \text{H}^+ + \text{CH}_3\text{COO}^-$
Carbonic acid	3.77	$\text{H}_2\text{CO}_3 = \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ $\text{HCO}_3^- = \text{H}^+ + \text{CO}_3^{2-}$
Phosphoric acid	2.14 7.20 12.40	$\text{H}_3\text{PO}_4 = \text{H}^+ + \text{H}_2\text{PO}_4^-$ $\text{H}_2\text{PO}_4^- = \text{H}^+ + \text{HPO}_4^{2-}$ $\text{HPO}_4^{2-} = \text{H}^+ + \text{PO}_4^{3-}$
Glycine	2.34 9.60	$\text{H}_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COOH} = \text{H}^+ + \text{H}_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$ $\text{H}_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COO}^- = \text{H}^+ + \text{H}_2\text{NCH}_2\text{COO}^-$

การทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. หลอดทดสอบ
2. ที่วางหลอดทดสอบ
3. หลอดหยดสาร
4. ปีกเกอร์
5. แท่งแก้วคนสาร
6. กระบอกตวงน้ำ

สารเคมี

1. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 0.01 M (0.01 M HCl)
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.01 M (0.01 M NaOH)
3. สารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต เข้มข้น 0.5 M (0.5 M NaH_2PO_4)
4. สารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต เข้มข้น 0.5 M (0.5 M Na_2HPO_4)
5. สารละลายกรดแอสติก เข้มข้น 1.0 M (1.0 M CH_3COOH)
6. สารละลายโซเดียมแอสเตต เข้มข้น 1.0 M (1.0 M CH_3COONa)
7. สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1.0 M (1.0 M NH_4OH)
8. สารละลายแอมโมเนียม คลอไรด์ เข้มข้น 1.0 M (1.0 M NH_4Cl)

วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 การเตรียมสารละลาย buffer และ unbuffer

สารละลาย buffer

1. 1.0 M NH_4OH จำนวน 5 mL ผสมกับ 1.0 M NH_4Cl จำนวน 20 mL (1:4)
2. 0.5 M NaH_2PO_4 จำนวน 10 mL ผสมกับ 0.5 M Na_2HPO_4 จำนวน 10 mL
3. 1.0 M NH_4OH จำนวน 10 mL ผสมกับ 1.0 M NH_4Cl จำนวน 10 mL (1:1)
4. 1.0 M CH_3COOH จำนวน 10 mL ผสมกับ 1.0 M CH_3COONa จำนวน 10 mL (1:4)

สารละลาย Unbuffer

1. 0.0001 M HCl (0.01 M HCl จำนวน 1 mL ผสมกับน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 100 mL)
2. 0.0001 M HCl (0.01 M NaOH จำนวน 1 mL ผสมกับน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 100 mL)
3. น้ำกลั่นจำนวน 400 mL ที่ต้มไล่คาร์บอนไดออกไซด์ออกเรียบร้อยแล้ว

ตอนที่ 2 สารละลาย unbuffer ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของสารละลาย

1. นำหลอดทดสอบมา 3 หลอด เติมสารละลาย unbuffer ลงในแต่ละหลอด ๆ ละ 3 mL ตามตารางข้างล่างนี้

หลอดทดสอบ	สารละลาย unbuffer
1	น้ำกลั่น 3 mL
2	0.0001 M HCl 3 mL
3	0.0001 M NaOH 3 mL

2. ใช้เครื่องมือ pH meter ในการวัดค่า pH ของสารละลายเริ่มต้นทั้ง 3 หลอดก่อนเติมสารละลายกรดและเบส ทำการบันทึกค่า pH ที่วัดได้
3. หยดสารละลายกรด HCl ความเข้มข้น 0.01 M ลงในแต่ละหลอด ๆ ละ 1 หยดตามตารางข้างล่างนี้ คนให้เข้ากัน และนำมาวัดค่า pH ของสารละลายหลังเติมกรด

หลอดทดสอบ	สารละลาย unbuffer	0.01 M HCl
1	น้ำกลั่น 3 mL	1 หยด
2	0.0001 M HCl 3 mL	1 หยด
3	0.0001 M NaOH 3 mL	1 หยด

- นำหลอดทดสอบใหม่มา 3 หลอด เติมสารละลาย unbuffer ลงในแต่ละหลอด ๆ ละ 3 mL ทำการหยดสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.01 M จำนวน 1 หยดลงในแต่ละหลอดตามตารางข้างล่างนี้ ทำการวัดค่า pH ของสารละลายหลังเติมเบส

หลอดทดสอบ	สารละลาย unbuffer	0.01 M NaOH
1	น้ำกลั่น 3 mL	1 หยด
2	0.0001 M HCl 3 mL	1 หยด
3	0.0001 M NaOH 3 mL	1 หยด

ตอนที่ 3 สารละลาย buffer ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ในสารละลาย

- นำหลอดทดสอบมา 4 หลอด เติมสารละลาย buffer ลงในแต่ละหลอด ๆ ละ 3 mL ตามตารางข้างล่างนี้

หลอดทดสอบ	สารละลาย buffer
1	NaH_2PO_4 และ Na_2HPO_4
2	CH_3COOH และ CH_3COONa
3	NH_4OH และ NH_4Cl (1:1)
4	NH_4OH และ NH_4Cl (1:4)

- ใช้เครื่องมือ pH meter ในการวัดค่า pH ของสารละลายเริ่มต้นทั้ง 4 หลอดก่อนเติมสารละลายกรดและเบส ทำการบันทึกค่า pH ที่วัดได้
- หยดสารละลายกรด HCl ความเข้มข้น 0.01 M ลงในแต่ละหลอด ๆ ละ 1 หยดตามตารางข้างล่างนี้ คนให้เข้ากัน และนำมาวัดค่า pH ของสารละลายหลังเติมกรด

หลอดทดสอบ	สารละลาย buffer	0.01 M HCl
1	NaH ₂ PO ₄ และ Na ₂ HPO ₄	1 หยด
2	CH ₃ COOH และ CH ₃ COONa	1 หยด
3	NH ₄ OH และ NH ₄ Cl (1:1)	1 หยด
4	NH ₄ OH และ NH ₄ Cl (1:4)	1 หยด

4. นำหลอดทดสอบใหม่มา 4 หลอด เติมสารละลาย buffer ลงในแต่ละหลอด ๆ ละ 3 mL ทำการหยดสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.01 M จำนวน 1 หยดลงในแต่ละหลอดตามตารางข้างล่างนี้ ทำการวัดค่า pH ของสารละลายหลังเติมเบส

หลอดทดสอบ	สารละลาย buffer	0.01 M NaOH
1	NaH ₂ PO ₄ และ Na ₂ HPO ₄	1 หยด
2	CH ₃ COOH และ CH ₃ COONa	1 หยด
3	NH ₄ OH และ NH ₄ Cl (1:1)	1 หยด
4	NH ₄ OH และ NH ₄ Cl (1:4)	1 หยด

บันทึกผลการทดลอง

รายงานการปฏิบัติการเรื่อง.....

ชื่อผู้ทำการทดลอง

1.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

2.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

3.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

วันที่ทำการทดลอง.....

อาจารย์ผู้ควบคุม

1.....

2.....

วัตถุประสงค์

1.....

2.....

3.....

ผลการทดลอง

ตอนที่ 2 สารละลาย unbuffer ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของสารละลาย

	สารละลาย (1) น้ำกลั่น หลอดที่ 1	สารละลาย (2) 0.0001 M HCl หลอดที่ 2	สารละลาย (3) 0.0001 M NaOH หลอดที่ 3
1. ค่า pH ของสารละลายตั้งต้น (ก่อนเติม กรด และ เบส)			
2. ค่า pH ของสารละลายตั้งต้น (ก่อนเติม 0.01 M HCl)			
3. ค่า pH ของสารละลายตั้งต้น (ก่อนเติม 0.01 M NaOH)			

ตอนที่ 3 สารละลาย buffer ที่มีผลต่อการควบคุม pH ในสารละลาย

	สารละลาย (4) NaH_2PO_4 และ Na_2HPO_4 หลอดที่ 1	สารละลาย (5) CH_3COOH และ CH_3COONa หลอดที่ 2	สารละลาย (6) NH_4OH และ NH_4Cl หลอดที่ 3	สารละลาย (7) NH_4OH และ NH_4Cl (1:4) หลอดที่ 4
1. ค่า pH ของสารละลายตั้งต้น (ก่อนเติม กรด และ เบส)				
2. ค่า pH ของสารละลายตั้งต้น (ก่อนเติม 0.01 M HCl)				
3. ค่า pH ของสารละลายตั้งต้น (ก่อนเติม 0.01 M NaOH)				

ตารางสรุปการเปลี่ยนแปลงค่า pH เมื่อเติมกรดและเบสลงในสารละลายข้อ 1 ถึงข้อ 2

	ค่า pH ที่เปลี่ยนแปลง	
	สารละลาย unbuffer	สารละลาย buffer
1. เติมกรด	สารละลาย (1).....	สารละลาย (4).....
2. เติมเบส	สารละลาย (1).....	สารละลาย (4).....
3. เติมกรด	สารละลาย (2).....	สารละลาย (5).....
4. เติมเบส	สารละลาย (2).....	สารละลาย (5).....
5. เติมกรด	สารละลาย (3).....	สารละลาย (6).....
6. เติมเบส	สารละลาย (3).....	สารละลาย (6).....

คำถามท้ายการทดลอง

- จงอธิบายการเปลี่ยนแปลงค่า pH หลังจากการเติมสารละลายกรดและเบสลงในสารละลาย buffer และ unbuffer

บทที่ 11

ไฟฟ้าเคมี

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปฏิกิริยาเคมีไฟฟ้ากับกระแสไฟฟ้า
2. เพื่อศึกษาปฏิกิริยารีดอกซ์และปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นที่ขั้วไฟฟ้า
3. เพื่อศึกษาปฏิกิริยาของเซลล์กัลวานิกและอิเล็กโทรไลติกเซลล์

บทนำ

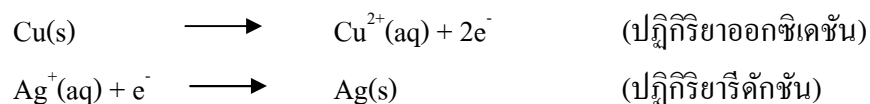
ไฟฟ้าเคมี เป็นการศึกษาเกี่ยวกับปฏิกิริยาเคมีที่ทำให้เกิดกระแสไฟฟ้า กระแสไฟฟ้าทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมี หากใช้การถ่ายเทอิเล็กตรอนเป็นเกณฑ์แล้ว ปฏิกิริยาเคมีแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

1. ปฏิกิริยาที่มีการถ่ายเท e^- เรียกว่าปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox Reaction)
2. ปฏิกิริยาที่ไม่มีการถ่ายเท e^- เรียกว่าปฏิกิริยานอนรีดอกซ์ (Nonredox Reaction)

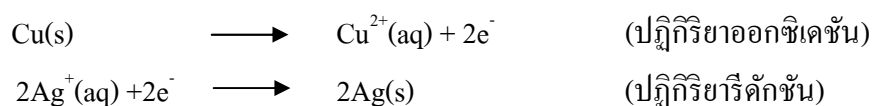
ปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox Reaction หรือ Oxidation-reduction Reaction) หมายถึง ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายเท e^- เช่นเมื่อนำแผ่นโลหะทองแดง (Cu) จุ่มลงในสารละลายของ $AgNO_3$ พบว่าที่แผ่นโลหะทองแดง (Cu) มีของแข็งสีขาวปนเทาเกาะอยู่ และเมื่อนำมาเคาะจะพบว่าโลหะทองแดง (Cu) เกิดการสึกกร่อน ส่วนสีของสารละลาย $AgNO_3$ ก็จะเปลี่ยนจากใสไม่มีสีเป็นสีฟ้า

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้อธิบายได้ว่าการที่โลหะทองแดงเกิดการสึกกร่อนเป็นเพราะโลหะทองแดง (Cu) เกิดการเสียอิเล็กตรอนกลายเป็น Cu^{2+} ซึ่งมีสีฟ้าและเมื่อ Ag^+ รับอิเล็กตรอนเข้ามาจะกลายเป็น Ag (โลหะเงิน) มาเกาะอยู่ที่แผ่นโลหะทองแดง

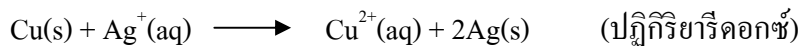
ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น เขียนในรูปสมการได้ดังนี้



e^- ที่ถ่ายเทต้องเท่ากัน สมการเคมีที่เกิดขึ้นที่แท้จริงต้องเป็น



ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในแต่ละสมการเรียกว่าครึ่งปฏิกิริยา ซึ่งการเกิดปฏิกิริยาถ่ายเท e^- จะเกิดขึ้นได้สมบูรณ์ก็ต่อเมื่อต้องนำครึ่งปฏิกิริยาทั้งสองมารวมกัน เขียนเป็นสมการได้ดังนี้



สรุปได้ว่าการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์จะต้องประกอบไปด้วย

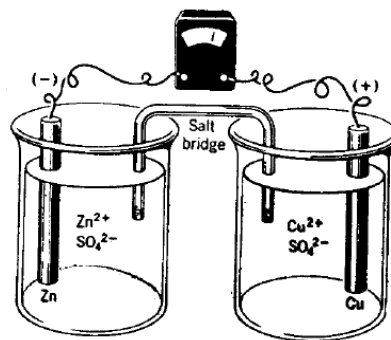
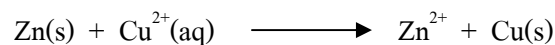
1. สารที่ให้ e^- เรียกว่าตัวรีดิวซ์ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation Reaction)
2. สารที่รับ e^- เรียกว่าตัวออกซิไดซ์ เกิดปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction Reaction)

เซลล์ไฟฟ้าเคมี คือ อุปกรณ์ที่ทำให้มีการเคลื่อนที่ของ e^- ที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยารีดอกซ์ไหลผ่านตัวนำไฟฟ้า ปฏิกิริยารีดอกซ์อาจเกิดขึ้นเองหรือเกิดขึ้นเมื่อให้พลังงานไฟฟ้าเข้าไปในเซลล์ ส่วนประกอบสำคัญในเซลล์ไฟฟ้าเคมีมี 4 ส่วน ดังนี้

1. สารละลายอิเล็กโทรไลต์ (electrolyte) เป็นสารละลายที่แตกตัวเป็นไอออนและยอมให้กระแสไฟฟ้าไหลผ่านได้ เช่น สารละลายของเกลือคอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO_4)
2. สะพานเกลือ (salt bridge) ซึ่งเตรียมจากการนำเกลือที่ละลายน้ำได้ดี และมีไอออนบวกกับไอออนลบเคลื่อนที่ด้วยความเร็วใกล้เคียงกัน (เช่น KCl , KNO_3) มาละลายน้ำเติมวุ้นลงไปทำให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันโดยการให้ความร้อนแล้วเทลงในหลอดแก้วรูปตัวยู ทิ้งให้เย็น
3. ขั้วไฟฟ้า (electrode) เป็นโลหะที่จุ่มอยู่ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ซึ่งขั้วไฟฟ้าอาจทำหน้าที่เป็นแอโนด (anode) เป็นขั้วไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือขั้วแคโทด (cathode) เป็นขั้วไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยารีดักชัน
4. โวลต์มิเตอร์ (voltmeter) เป็นเครื่องบอกค่าเข็มของโวลต์มิเตอร์เบนไปในทิศทางเดียวกับการไหลของ e^- เมื่อมีการเคลื่อนที่ของ e^- เกิดขึ้น ข้อมมิกระแสไฟฟ้าไหลผ่านในทิศทางตรงกันข้ามกับการเคลื่อนที่ของ e^-

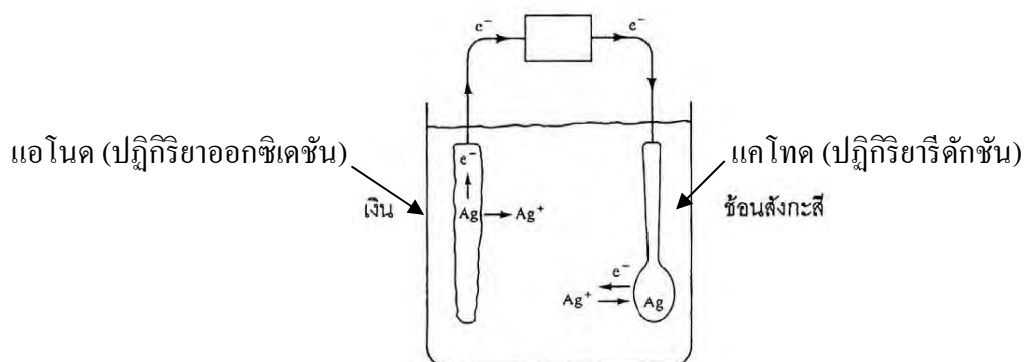
เซลล์ไฟฟ้าเคมีแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ เซลล์กัลวานิก (galvanic cell) และเซลล์อิเล็กโทรไลต์ (electrolytic cell)

เซลล์กัลวานิก คือ เซลล์ที่เปลี่ยนพลังงานเคมีเป็นพลังงานไฟฟ้า เช่น เซลล์แดเนียล (Daniell cell) ถ่านไฟฉายหรือเซลล์แห้ง อาจเรียกว่าเซลล์เลอแกลนเช่ (Leclanche) และเซลล์สะสมตะกั่ว ซึ่งนิยมใช้เป็นแบตเตอรี่รถยนต์ เซลล์แห้งจัดเป็นเซลล์ปฐมภูมิ (primary cell) เพราะไม่อาจประจุไฟได้ แต่เซลล์สะสมตะกั่วจัดเป็นเซลล์ทุติยภูมิ (secondary cell) เพราะสามารถประจุไฟได้ โดยปกติเซลล์กัลวานิกจะประกอบด้วยขั้วไฟฟ้า 2 ขั้ว ปฏิกิริยาเคมีเป็นปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้นเองได้ตามธรรมชาติ เช่น



ภาพที่ 11.1 แสดงเซลล์กัลวานิก

เซลล์อิเล็กโทรไลต์ คือเซลล์ที่เปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าให้เป็นพลังงานเคมี ในกรณีที่ปฏิกิริยาเคมีไม่สามารถเกิดขึ้นได้เองต้องให้พลังงานไฟฟ้าเข้าไปในเซลล์ แหล่งให้พลังงานไฟฟ้าคือแบตเตอรี่ เช่น ขบวนการแยกสารเคมีต่าง ๆ ด้วยกระแสไฟฟ้า การชุบซ้อนด้วยโลหะเงิน เป็นต้น การชุบซ้อนด้วยโลหะเงิน ทำได้โดยนำแท่งเงินทำเป็นแอโนด ช้อนทำเป็นแคโทดของเซลล์ไฟฟ้าผ่านกระแสเข้าไป ปรับศักย์ไฟฟ้าให้เหมาะสม โลหะเงินจะละลายออกจากแอโนดลงสู่สารละลายเป็น Ag^+ แล้วเคลื่อนที่ไปปรับอิเล็กตรอนกลายเป็น Ag เกาะที่แคโทดที่เป็นช้อน



ภาพที่ 11.2 แสดงเซลล์อิเล็กโทรไลต์

การชุบโลหะด้วยไฟฟ้ามีหลักการทั่วไปคือ

1. ใช้โลหะที่จะชุบเป็นแคโทด
2. จะชุบด้วยโลหะใดใช้โลหะนั้นเป็นแอโนด
3. สารละลายอิเล็กโทรไลต์ ต้องมีไอออนของโลหะที่เป็นแอโนด
4. ใช้ไฟฟ้ากระแสตรง และควบคุมศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ให้เหมาะสม

การคำนวณศักย์ไฟฟ้า

$$E^0_{\text{cell}} = E^0_{\text{red (cathode)}} - E^0_{\text{ox (anode)}}$$

หรือ $E^0_{\text{cell}} = E^0_{\text{oxidation}} + E^0_{\text{reduction}}$

เมื่อ $E^0_{\text{cell}} =$ ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์

ตาราง 11.1 แสดง Standard Reduction Potential ที่ 25 °C

Half – reduction	โวลต์ (V)
$\text{Zn}^{2+}(\text{aq}) + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{Zn}(\text{s})$	- 0.76
$\text{Fe}^{2+}(\text{aq}) + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{Fe}(\text{s})$	- 0.44
$\text{Pb}^{2+}(\text{aq}) + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{Pb}(\text{s})$	- 0.13
$2\text{H}^+(\text{aq}) + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{H}_2(\text{g})$	- 0.00
$\text{Cu}^{2+}(\text{aq}) + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{Cu}(\text{s})$	+ 0.34
$\text{Fe}^{3+}(\text{aq}) + \text{e}^- \longrightarrow \text{Fe}^{2+}(\text{aq})$	+ 0.77
$\text{Ag}^+(\text{aq}) + \text{e}^- \longrightarrow \text{Ag}(\text{s})$	+ 0.799

การทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. โวลต์มิเตอร์ พร้อมสายไฟ
2. แบตเตอรี่ ขนาด 9 โวลต์
3. บีกเกอร์ขนาด 50 mL 3 ใบ
4. แผ่นโลหะทองแดง สังกะสี และตะปูเหล็ก
5. กระดาษทราย
6. สะพานไอออน
7. ลวดหนีบกระดาษ

สารเคมี

1. สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต เข้มข้น 1 M (1M CuSO₄)
2. สารละลายซิงก์ซัลเฟต เข้มข้น 1 M (1 M ZnSO₄)
3. สารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต เข้มข้น 1 M (1 M FeSO₄)
4. สารละลายโพแทสเซียมไนเตรท เข้มข้น 1 M (1 M KNO₃)

วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 เซลล์กัลวานิก

- 1.1 ใช้กระดาษทรายขัดแผ่นโลหะทองแดง สังกะสี และตะปูเหล็กให้สะอาด
- 1.2 นำบีกเกอร์ขนาด 50 mL มา 3 ใบ ใบที่ 1 ใส่ 1 M CuSO₄ ใบที่ 2 ใส่ 1 M ZnSO₄ ใบที่ 3 ใส่ 1 M FeSO₄ อย่างละ 40 mL
- 1.3 เตรียมสะพานไอออน (salt bridge) โดยใช้กระดาษกรองชุบ 1 M KNO₃
- 1.4 ใช้สายไฟลึบแผ่นทองแดงจุ่มลงในบีกเกอร์ที่มี 1 M CuSO₄
- 1.5 ใช้สายไฟลึบแผ่นสังกะสีจุ่มลงในบีกเกอร์ที่มี 1 M ZnSO₄
- 1.6 ใช้สายไฟลึบตะปูจุ่มลงในบีกเกอร์ที่มี 1 M FeSO₄
- 1.7 นำบีกเกอร์จากข้อ 1.4 และ 1.5 มาวางติดกันแล้วใช้สะพานไอออนเชื่อมระหว่างบีกเกอร์ทั้งสอง ต่อสายไฟที่ลึบแผ่นทองแดงและสังกะสีเข้ากับโวลต์มิเตอร์ ตามภาพที่ 11.1 สังเกตโวลต์มิเตอร์ว่าเข็มเบนไปทางขั้วโลหะใด อ่านค่าความต่างศักย์ บันทึกผล
- 1.8 เขียนปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นที่ขั้วแคโทดและแอโนด และปฏิกิริยารวมของเซลล์ไฟฟ้าเคมี
- 1.9 ทำการทดลองเหมือนข้อ 1.7 แต่เปลี่ยนคู่เซลล์กัลวานิกดังนี้
 - 1.8.1 บีกเกอร์ 1.4 กับ 1.6
 - 1.8.2 บีกเกอร์ 1.5 กับ 1.6

หมายเหตุ

เมื่อต้องการอ่านค่า E°_{cell} จากโวลต์มิเตอร์ ให้นำสะพานไอออนจุ่มในสารละลายทั้งสอง และต้องระวังไม่ให้สะพานเกลือแห้ง โดยการหยดสารละลาย 1 M KNO₃

ตอนที่ 2 การชุบด้วยไฟฟ้า

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. แผ่นโลหะทองแดง 2 แผ่น ขนาด 1.0 x 6.0 cm
2. ลวดหนีบกระดาด
3. กระดาดทรายชนิดละเอียด
4. แบตเตอรี่ขนาด 6 โวลต์ 1 อัน (ใช้กล่องใส่ถ่านไฟฉาย ขนาด 1.5 โวลต์ 4 ก้อน)
5. บีกเกอร์ขนาด 50 mL 1 ใบ

สารเคมี

1. สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต เข้มข้น 0.5 M (0.5 M CuSO_4) (ใช้ทั้งตอนที่ 2 และ 3)

2.1 การชุบโลหะทองแดง

- 2.1.1 ขัดผิวทองแดงทั้งสองด้านเพียงเล็กน้อยด้วยกระดาษทราย เสร็จแล้วล้างน้ำและเช็ดให้แห้ง หนีบปลายทั้งสองของแผ่นทองแดง ให้ส่วนที่ยาวประมาณ 0.5 cm นำส่วนที่งอพาดลงบนบีกเกอร์ ขนาด 50 mL โดยให้โลหะทั้งสองอยู่ตรงข้ามกัน

เติมสารละลาย 0.5 M CuSO_4 40 mL ลงในบีกเกอร์

ต่อแผ่นทองแดงทั้งสองเข้ากับขั้วบวกและขั้วลบของแบตเตอรี่ เพื่อทำการประจุไฟ

สังเกตผิวหน้าของแผ่นทองแดงทั้งสองหลังจากประจุไฟ 5 นาที บันทึกผลที่เกิดขึ้น

ผลที่เกิดขึ้น.....
.....
.....

ปลดขั้วแบตเตอรี่ออกจากโลหะทั้งสอง แล้วต่อใหม่โดยสลับขั้ว สังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบนผิวหน้าของแผ่นทองแดงอีกครั้งหนึ่งหลังจากเวลาผ่านไป 5 นาที หรือมากกว่านั้น เล็กน้อย บันทึกผลที่เกิดขึ้น เสร็จแล้วปลดขั้วทั้งสองออกจากแบตเตอรี่

ผลที่เกิดขึ้น.....
.....

2.2 การชุบลวดหนีบกระดาดด้วยโลหะทองแดง

- 2.2.1 ขัดลวดหนีบกระดาดด้วยกระดาษทรายละเอียด แล้วล้างให้สะอาด เช็ดให้แห้ง

2.2.2 ต่อลวดหนีบกระดาศเข้ากับขั้วลบของแบตเตอรี่ และต่อแผ่นทองแดง 1 แผ่น เข้ากับขั้วบวกของแบตเตอรี่ จุ่มลวดหนีบกระดาศและแผ่นทองแดงลงในสารละลาย 0.5 M CuSO_4 40 mL ซึ่งบรรจุอยู่ในบีกเกอร์ขนาด 50 mL สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นที่ขั้วไฟฟ้าทั้งสอง เมื่อเวลาผ่านไป 5 นาที บันทึกผลที่เกิดขึ้น

ผลที่เกิดขึ้น.....

.....

.....

สลับขั้วแบตเตอรี่ใหม่ โดยต่อขั้วบวกของแบตเตอรี่เข้ากับลวดหนีบกระดาศและขั้วลบเข้ากับแผ่นทองแดง สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นที่ขั้วไฟฟ้าทั้งสอง เมื่อเวลาผ่านไป 5 นาที บันทึกผลที่เกิดขึ้น

ผลที่เกิดขึ้น.....

.....

.....

บันทึกผลการทดลอง

รายงานการปฏิบัติการเรื่อง.....

ชื่อผู้ทำการทดลอง

1.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

2.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

3.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

วันที่ทำการทดลอง.....

อาจารย์ผู้ควบคุม

1.....

2.....

วัตถุประสงค์

1.....

2.....

3.....

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 เซลล์กัลวานิก

ขั้วไฟฟ้า	Cu/1 M CuSO ₄ Zn/1M ZnSO ₄	Cu/1 M CuSO ₄ Fe/1M FeSO ₄	Fe/1 M FeSO ₄ Zn/1M ZnSO ₄
1. ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ (โวลต์) จากการทดลอง			
2. ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ (โวลต์) จากการคำนวณ			
3. ทิศทางของกระแสไฟฟ้าไหลจากโลหะใดไปโลหะใด			
4. โลหะที่เป็นขั้วแอโนด			
5. โลหะที่เป็นขั้วแคโทด			
6. สมการครึ่งเซลล์ออกซิเดชัน			
7. สมการครึ่งเซลล์รีดักชัน			
8. สมการแสดงปฏิกิริยารีดอกซ์			

ตอนที่ 2 การชุบด้วยไฟฟ้า

ก่อนนำแผ่นทองแดงชุบด้วยไฟฟ้า เหตุใดจึงต้องนำแผ่นทองแดงมาขัดและล้างให้สะอาดก่อน (อธิบายโดยการสังเกตจากการทดลอง)

.....

ในการทดลองเรื่องเซลล์ไฟฟ้า Cu-Cu

จงเขียนปฏิกิริยาครึ่งเซลล์ทั้งสองพร้อมทั้งระบุว่าปฏิกิริยาใด คือ ออกซิเดชันหรือ รีดักชัน และ จงเขียนปฏิกิริยารวมที่เกิดขึ้นในเซลล์ไฟฟ้า

ครึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน คือ.....

ครึ่งปฏิกิริยารีดักชัน คือ.....

ปฏิกิริยารวมคือ.....

พิจารณาสิ่งที่เกิดขึ้น เมื่อทำการสลับขั้วของ Cu-Cu ที่ต่อเข้ากับแบตเตอรี่ จงเขียน สมการเคมีที่เกิดขึ้นในแต่ละขั้วไฟฟ้า พร้อมทั้งระบุว่าครึ่งปฏิกิริยาใด เกิดขึ้นที่ แอโนดหรือแคโทด และเขียนปฏิกิริยารวมที่เกิดขึ้น

ครึ่งปฏิกิริยาที่แอโนด คือ.....

ครึ่งปฏิกิริยาที่แคโทด คือ.....

ปฏิกิริยารวมคือ.....

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

.....

คำถามท้ายการทดลอง

1. จากการทดลอง ค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ที่ได้จากการทดลอง และจากการคำนวณเหมือนกันหรือต่างกัน อย่างไร อธิบาย
2. ถ้าใช้ $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ แทน FeSO_4 ในการทดลองของเซลล์ทองแดง – เหล็ก นักศึกษาคิดว่า ศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้จะเปลี่ยนไปหรือไม่
3. จากการทดลองตอนที่ 2 จงเขียนสมการของการเคลือบหรือชุบผิวของโลหะด้วยทองแดง (สมการรีดอกซ์)
4. จากการทดลองตอนที่ 3 แสดงสมการของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในกระบวนการชุบลวดหนึบ กระดาษ

บทที่ 12

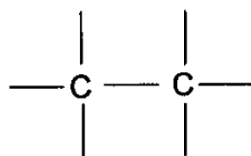
การศึกษาเคมีอินทรีย์เบื้องต้น

วัตถุประสงค์

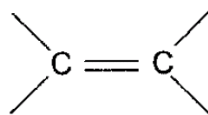
1. เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีของสารประกอบอินทรีย์
2. สามารถจำแนกชนิดของสารประกอบอินทรีย์และสารอนุพันธ์
3. เพื่อศึกษาปฏิกิริยาเฉพาะของสารประกอบอินทรีย์บางชนิด

บทนำ

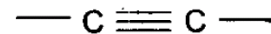
สารประกอบอินทรีย์ ประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอน (C) ซึ่งเกิดพันธะกับอะตอมของคาร์บอนเองและกับอะตอมอื่นได้ เช่น ไฮโดรเจน (H) ออกซิเจน (O) ไนโตรเจน (N) เป็นต้น คาร์บอนอะตอมเป็นเตตระเวเลนต์ (tetravalent) จะเกิดพันธะโคเวเลนต์ได้ 4 พันธะรอบคาร์บอนอะตอม พันธะที่เกิดขึ้นจะมี 3 แบบ คือ พันธะเดี่ยว (single bond) พันธะคู่ (double bond) และพันธะสาม (triple bond)



single bond
พันธะเดี่ยว



double bond
พันธะคู่



triple bond
พันธะสาม

สารประกอบไฮโดรคาร์บอน

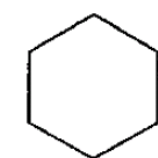
สารประกอบไฮโดรคาร์บอนเป็นสารประกอบอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีองค์ประกอบเฉพาะ คาร์บอนอะตอมและไฮโดรเจนอะตอมเท่านั้น ซึ่งจำแนกได้หลายประเภทตามวิธีการจำแนก

1. จำแนกตามวิธีการต่อของคาร์บอนอะตอม ได้แก่

1.1 อะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน (aliphatic hydrocarbon) เป็นไฮโดรคาร์บอนที่ประกอบด้วยคาร์บอนที่ต่อกันเป็นสายโซ่ตรง (straight chain) หรือต่อแบบโซ่กิ่ง (branched chain)



1.2 ไฮโดรคาร์บอนวงปิด (cyclic hydrocarbon) เป็นไฮโดรคาร์บอนที่ประกอบด้วยคาร์บอนอะตอมที่ต่อกันเป็นวงปิด ซึ่งมีทั้งวงปิดที่มีพันธะระหว่างคาร์บอนเป็นพันธะเดี่ยว พันธะคู่ และพันธะสาม และวงปิดที่มีพันธะเดี่ยวสลับกับพันธะคู่ เรียกว่า สารประกอบอะโรมาติก (aromatic hydrocarbon)

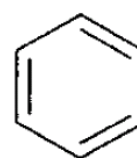


Cyclohexane



Cyclopentane

Cyclic



Benzene

aromatic

2. จำแนกตามชนิดของพันธะระหว่างคาร์บอน-คาร์บอนอะตอม ได้แก่

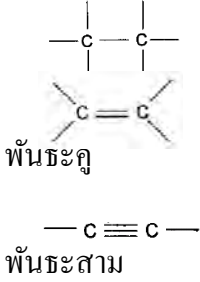
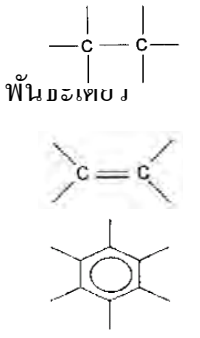
2.1 อัลเคน (alkane) หรือ พาราฟิน (paraffins) เป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีพันธะระหว่างคาร์บอนเป็นพันธะเดี่ยวเท่านั้น ดังนั้นสารประกอบอัลเคนจึงเฉื่อยต่อปฏิกิริยา อัลเคนจัดเป็นโมเลกุลอิ่มตัว (saturated molecule) มีสูตรทั่วไปเป็น C_nH_{2n+2} เช่น มีเทน (CH_4 , methane) อีเทน (C_2H_6 , ethane) โพรเพน (C_3H_8 , propane) บิวเทน (C_4H_{10} , butane)

2.2 อัลคีน (alkene) หรือ โอลิฟิน (olefins) เป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีพันธะระหว่างคาร์บอนเป็นพันธะคู่ มีสูตรทั่วไปเป็น C_nH_{2n} เช่น เอทิลีน (C_2H_4 , ethylene) บิวทีน (C_4H_8 , butene)

2.3 อัลไคน์ (alkyne) เป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีพันธะระหว่างคาร์บอนอะตอมเป็นพันธะสาม มีสูตรทั่วไปเป็น C_nH_{2n-2} เช่น เอไทม์ (C_2H_2 , ethyne) โพรไพน์ (C_3H_4 , propyne)

ทั้งอัลคีนและอัลไคน์ จัดเป็นโมเลกุลชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated molecule)

ตารางที่ 12.1 ประเภทของสารประกอบไฮโดรคาร์บอน

ประเภท	ชนิดของพันธะ	ตัวอย่าง
1. อะลิฟาติก 1. อัลเคน 2. อัลคีน 3. อัลไคน์	 พันธะเดี่ยว พันธะคู่ พันธะสาม	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ n-hexane $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ n-hexene $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ n-hexyne
2. ไซคลิก 2.1 ไซโคลอัลเคน 2.2 ไซโคลอัลคีน 2.3 อะโรมาติก	 พันธะเดี่ยว พันธะคู่	cyclohexane cyclohexene benzene toluene

สารที่มีโครงสร้างแตกต่างกันจะทำให้สมบัติทางเคมีและทางกายภาพแตกต่างกันด้วย สมบัติทางกายภาพที่สำคัญของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนอันดับแรกคือ เป็นสารประกอบที่ไม่มีขั้ว (non-polar) ดังนั้นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนจะไม่ทำปฏิกิริยากับตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น น้ำ แอลกอฮอล์ แต่จะรวมตัวกับตัวทำละลายจำพวกที่ไม่มีขั้วได้ดี เช่น คาร์บอนเตตระคลอไรด์ (carbontetrachloride, CCl_4) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane, CH_2Cl_2) สารประกอบไฮโดรคาร์บอนจะพบอยู่ในธรรมชาติ เช่น ในน้ำมันดิบและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากน้ำมันดิบ

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับสารประกอบไฮโดรคาร์บอนจะขึ้นอยู่กับชนิดของพันธะที่อยู่ในสารประกอบนั้น ๆ เช่น สารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่เป็นสารประกอบอิ่มตัว อัลเคนจะเกิดปฏิกิริยาการเผาไหม้ (combustion) กับ O_2 ได้ แต่จะไม่เกิดปฏิกิริยากับบรีเอเจนท์ ในขณะที่สารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่เป็นสารประกอบไม่อิ่มตัว (อัลคีนและอัลไคน์) ไม่ติดไฟ แต่จะเกิดปฏิกิริยาเพิ่มเข้า (addition) กับบรีเอเจนต์ได้ที่พันธะคู่หรือพันธะสามของคาร์บอน เกิดเป็นสารประกอบชนิดอิ่มตัว

สำหรับสารประกอบอะโรมาติก ที่รู้จักกันดีก็คือเบนซีน (benzene, C₆H₆)

ปฏิกิริยาที่สำคัญที่เกิดขึ้นกับสารประกอบไฮโดรคาร์บอน

อัลเคน (alkane)

1. ปฏิกิริยาการเผาไหม้ (combustion reaction) เป็นปฏิกิริยาที่สารประกอบอัลเคนเกิดการรวมตัวโดยตรงกับแก๊สออกซิเจนที่มากเกินไปที่อุณหภูมิสูง ให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำเป็นสารผลิตภัณฑ์ และพลังงานความร้อนออกมาอย่างมากมาย เช่น

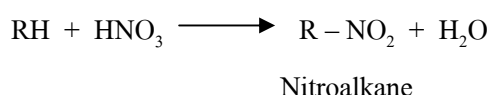


2. ปฏิกิริยาแทนที่ (substitution reaction) จะเกิดในภาวะที่มีแสงแดดหรือแสงอัลตราไวโอเลต กับฮาโลเจน เกิดเป็นอัลคิลเฮไลด์ (alkyl halide) ซึ่งเกิดจากการแทนที่ของฮาโลเจนกับไฮโดรเจนอะตอมในอัลเคน เช่น ที่เห็นสามารถเกิดปฏิกิริยากับคลอรีนในที่สว่างได้



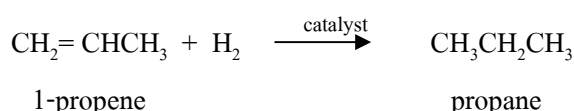
แสงอัลตราไวโอเลต (hν) จะทำให้พันธะระหว่าง Cl กับ Cl แตกออกเป็นฟรีเรดิคัล
 $\text{Cl}_2 \xrightarrow{h\nu} \text{Cl}^\cdot + \text{Cl}^\cdot$ จากนั้นจึงทำปฏิกิริยาที่พันธะคาร์บอน-ไฮโดรเจน

3. ปฏิกิริยาไนเตรชัน (Nitration) เป็นการให้กลุ่มไนโตร (-NO₂, nitro group) เข้าแทนที่โดยใช้กรดไนตริกเข้มข้น อุณหภูมิ 400 °C จะให้ไนโตรอัลเคน



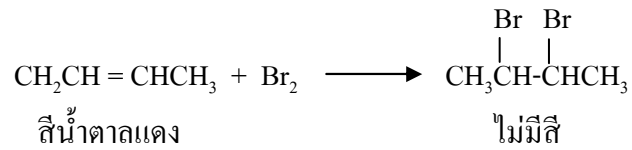
อัลคีน และอัลไคน์ (alkene and alkyne)

1. ปฏิกิริยาเพิ่มเข้า (addition reaction) ปฏิกิริยารวมตัวเกิดขึ้นได้เนื่องจากอัลคีนและอัลไคน์มีพันธะคู่และพันธะสาม จึงสามารถรวมตัวกับรีเอเจนต์ได้หลายวิธี เช่น ปฏิกิริยาเพิ่มเข้าของไฮโดรเจน (hydrogenation reaction)



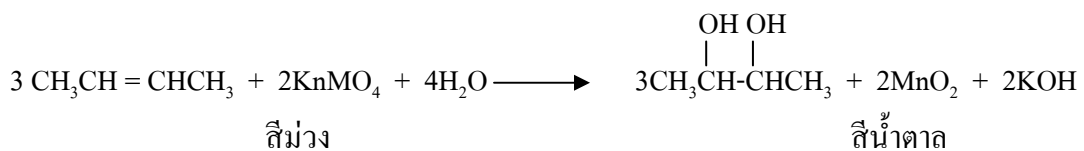
ปฏิกิริยาจะเกิดเร็วมากขึ้นในอุณหภูมิปกติ ที่มีตะกั่วเป็นแพลตินัม (platinum, Pt) หรือนิกเกิล (nickel, Ni)

นอกจากนี้ยังเกิดปฏิกิริยาเพิ่มเข้าของฮาโลเจน (halogenation reaction) อีกด้วย



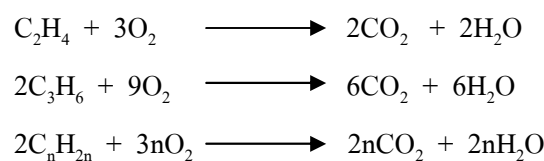
จะเกิดปฏิกิริยาได้เร็วในตัวทำละลายคาร์บอนเตตระคลอไรด์ ปฏิกิริยาที่สำคัญอีกปฏิกิริยา คือปฏิกิริยาการเกิดพอลิเมอร์ (polymerization) เป็นการต่อกันให้เป็นโมเลกุลใหญ่ขึ้นจากโมเลกุลเล็ก ๆ

2. ปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (KMnO_4) อัลคีนและอัลไคน์ สามารถถูกออกซิไดส์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (KMnO_4)



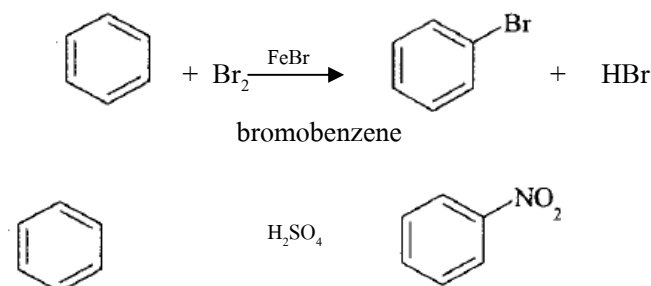
จากปฏิกิริยาข้างต้นพบว่าสีม่วงของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต เปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาลของแมงกานีสไดออกไซด์

3. ปฏิกิริยาสันดาป (combustion reaction) อัลคีนและอัลไคน์จะติดไฟให้คาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำดังสมการ



อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (aromatic hydrocarbon)

1. ปฏิกิริยาแทนที่ไฮโดรเจนอะตอม โดยอะตอมอื่น เช่น





สารอนุพันธ์ไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon derivatives)

สารอนุพันธ์ไฮโดรคาร์บอนเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีการเพิ่มธาตุอื่น เช่น ออกซิเจน ไนโตรเจน ฮาโลเจน ลงไปด้วย ส่วนที่เพิ่มเข้าไปนี้เราเรียกว่า หมู่ฟังก์ชันนัล (functional group) ซึ่งจะทำให้สารประกอบเหล่านี้มีสมบัติทางเคมีและทางกายภาพแตกต่างกันไป ดังตารางที่

12.2

ตารางที่ 12.2 หมู่ฟังก์ชันนัลของสารอนุพันธ์ไฮโดรคาร์บอน

ประเภท	หมู่ฟังก์ชันนัล	สูตรทั่วไป	ตัวอย่าง
Halohydrocarbons	-X (F, Cl, Br, I)	R-X	CH ₃ I Iodomethane (methyl iodide)
Alcohols	-OH	R-OH	CH ₃ OH Methanol (Methyl alcohol)
Aldehydes	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---C---H} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R---C---H} \end{array}$	CH ₂ O Methanal (formaldehyde)
Ketones	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---C---} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R---C---R}' \end{array}$	CH ₃ COCH ₃ Propanone (dimethyl ketone or acetone)
Carboxylic acids	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---C---OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R---C---OH} \end{array}$	CH ₃ COOH Ethanoic acid (acetic acid)

ตารางที่ 12.2 (ต่อ) หมู่ฟังก์ชันนัลของสารอนุพันธ์ไฮโดรคาร์บอน

ประเภท	หมู่ฟังก์ชันนัล	สูตรทั่วไป	ตัวอย่าง
Esters	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---C---O---} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R---C---O---R}' \end{array}$	$\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ Ethyl acetate
Amines	$-\text{NH}_2$	R-NH_2	CH_3NH_2 Aminomethane (methaylamine)

R and R' represent hydrocarbon fragments

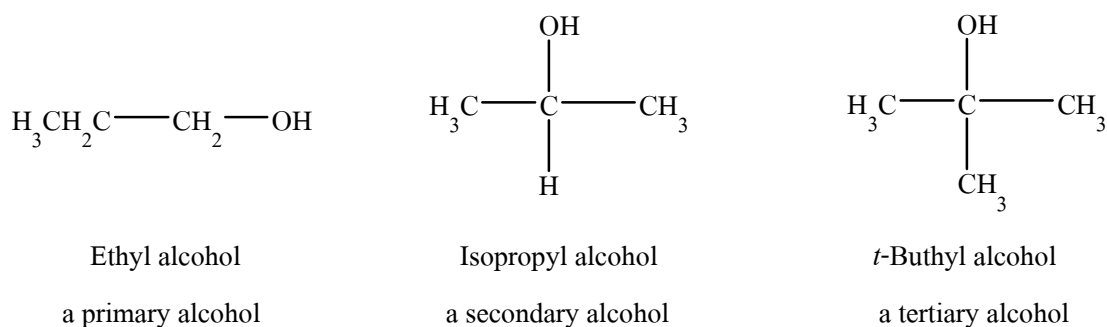
แอลกอฮอล์ (alcohol)

เป็นสารอนุพันธ์ไฮโดรคาร์บอนที่สำคัญใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรมต่างๆ

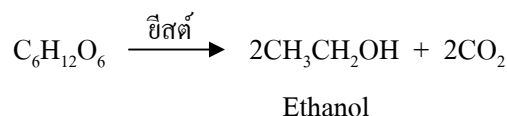
แอลกอฮอล์จะมีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group, $-\text{OH}$) เป็นหมู่ฟังก์ชันนัล โดยตำแหน่งของ $-\text{OH}$ ที่เกาะกับคาร์บอนอะตอมในหมู่แอลคิล (ไฮโดรคาร์บอนที่มีไฮโดรเจนหายไป 1 อะตอม, alkyl group) จะแบ่งออกได้ 3 ประเภท ตามจำนวนของหมู่แอลคิลที่เกาะอยู่กับคาร์บอนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลเกาะอยู่



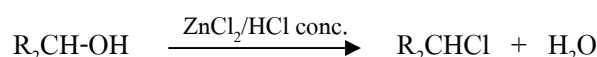
โดยที่ R, R', R'' เป็นหมู่แอลคิลที่อาจเหมือนกันหรือแตกต่างกันก็ได้ เช่น



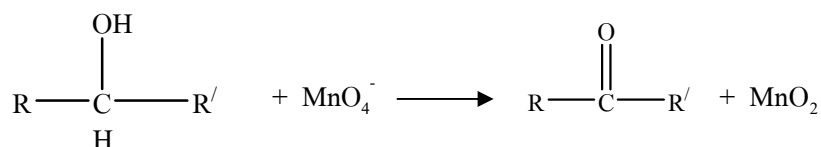
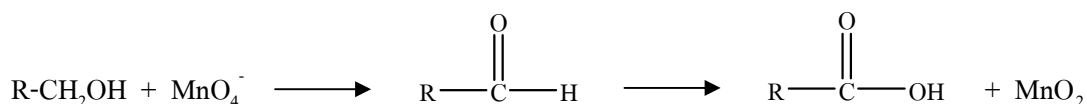
แอลกอฮอล์ที่รู้จักกันดีคือ เมทานอล(methanol, CH_3OH) และเอทานอล(ethanol, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) เมทานอลจะเป็นสารที่มีพิษ (high toxic) ต่อมมนุษย์ทำให้ตาบอดและตายได้ ส่วนเอทานอลพบในการหมักของพืช เช่น เบียร์ ไวน์ และวิสกี้ ซึ่งเป็นผลผลิตที่ได้จากกลูโคสในข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์และองุ่น



สารที่ใช้ทดสอบชนิดของแอลกอฮอล์ว่าเป็นชนิด primary (1°) secondary (2°) หรือ tertiary (3°) แอลกอฮอล์ คือ ลูกศรเอนเจนต์ (คือ สารละลายของซิงค์คลอไรด์ในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น) สารที่ใช้ทดสอบนี้จะใช้ได้ผลในกรณีแอลกอฮอล์ละลายได้ในลูกศรเอนเจนต์เท่านั้น โดยทั่วไปจะต้องเป็นแอลกอฮอล์ที่มีจำนวนคาร์บอนไม่เกิน 5 หรือ 6 คาร์บอน

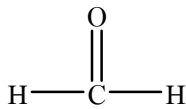


นอกจากนี้ 1° แอลกอฮอล์ และ 2° แอลกอฮอล์ถูกออกซิไดซ์ได้ด้วยตัวออกซิไดซ์ เช่น โพแทสเซียมไดโครเมต และโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ส่วน 3° แอลกอฮอล์จะไม่ถูกออกซิไดซ์ภายใต้สภาวะที่เป็นกลาง

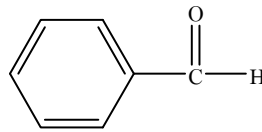


แอลดีไฮด์และคีโตน

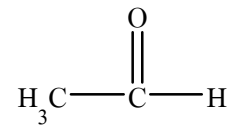
กลุ่มฟังก์ชันของแอลดีไฮด์คือ $\text{—}\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}\text{—H}$ และของคีโตนคือ $\text{—}\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}\text{—}$ ตัวอย่างสารประกอบแอลดีไฮด์ เช่น



Formaldehyde



benzaldehyde

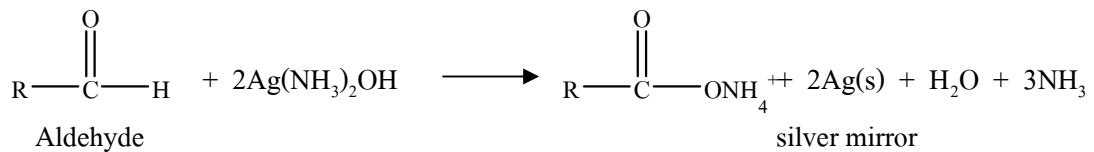


acetaldehyde

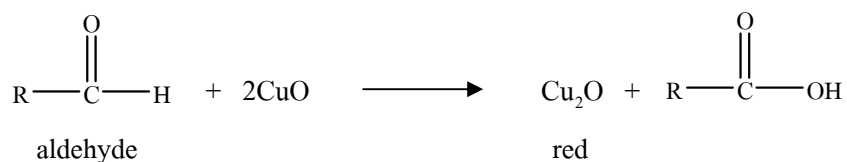
และตัวอย่างสารประกอบคีโตนเช่น อะซีโตน (acetone, $\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$)

เนื่องจากแอลดีไฮด์ถูกออกซิไดซ์ด้วยออกซิไดซิงเอเจนต์อย่างอ่อน ๆ ได้ เช่น ปฏิกริยากับ ทอลเลนรีเอเจนต์และเบนดิกทีเอเจนต์ และส่วนมากคีโตนจะไม่ถูกออกซิไดซ์ จึงใช้รีเอเจนต์เหล่านี้ ทดสอบความแตกต่างระหว่างแอลดีไฮด์และคีโตนได้ ตัวอย่างตัวออกซิไดซ์ เช่น

1. **ทอลเลนรีเอเจนต์ (Tollen's reagent)** เป็นรีเอเจนต์ที่ได้จากปฏิกิริยาของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรดกับสารละลายแอมโมเนีย แอลดีไฮด์ทุกตัวจะให้โลหะเงินซึ่งสามารถจับเป็นกระจกเงาที่ข้างหลอดทดลองได้ จึงมักเรียกว่าเกิด silver mirror



2. **สารละลายเบนดิกต์ (benedict's test)** อะลิฟาติกแอลดีไฮด์ จะถูกออกซิไดซ์ได้ด้วยสารละลายเบนดิกต์ (ซึ่งมีส่วนผสมของสารละลายคอปเปอร์(II)ซัลเฟต ในสารละลายเบส) คอปเปอร์(II)ไอออน จะถูกรีดิวซ์เป็นออกไซด์ของคอปเปอร์(I)ไอออน (Cu_2O) เป็นตะกอนสีแดงเข้ม สำหรับเอโรมาติกแอลดีไฮด์ (aromatic aldehyde) และคีโตนจะไม่เกิดปฏิกิริยากับสารละลายเบนดิกต์



3. **สารละลาย 2,4-ไดไนโตรฟีนิลไฮดราซีน (2,4-dinitrophenylhydrazine test)**
ทั้งแอลดีไฮด์และคีโตนสามารถทำปฏิกิริยากับ 2,4-ไดไนโตรฟีนิลไฮดราซีน ได้
ตะกอนสีเหลือง-แดง (สำหรับแอลกอฮอล์จะไม่เกิดปฏิกิริยา)

การทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. กระจกนาฬิกา
2. หลอดทดลอง
3. หลอดหยด
4. กระบอกตวง

สารเคมี

1. ไซโคลเฮกเซน (cyclohexane)
2. ไซโคลเฮกซีน (cyclohexene)
3. 5 % โบรมีนในสารละลายคาร์บอนเตตระคลอไรด์ (5% Br/CCl₄)
4. 0.5% โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (0.5% KMnO₄)
5. 10% โซเดียมไฮดรอกไซด์ (10% NaOH)
6. 10% กรดซัลฟิวริก (10% H₂SO₄)
7. กรดอะซิติก (acetic acid, CH₃COOH)
8. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (H₂SO₄ conc.)
9. 5% ซิลเวอร์ไนเตรด (5% AgNO₃)
10. 5% แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (5% NH₄OH)
11. 10% ฟอर्मัลดีไฮด์ (10% HCHO)
12. อะซีโตน (acetone)
13. เบนซาลดีไฮด์ (benzaldehyde, C₆H₅COH)
14. เมทานอล
15. เอทานอล

วิธีการทดลอง

1. ศึกษาสมบัติของสารประกอบไฮโดรคาร์บอน

1.1 ทดสอบการละลาย

นำหลอดทดลองมา 2 หลอด ใส่น้ำหลอดละ 2 mL แล้วหยดไซโคลเฮกเซน ลงในหลอดแรกจำนวน 5 หยด หยดไซโคลเฮกซีนลงในหลอดที่ 2 จำนวน 5 หยด บันทึกผลว่าละลายหรือไม่ ถ้าไม่ละลาย สารใดหนักหรือเบากว่าน้ำ

ทดสอบการละลายของสารทั้งสามชนิดอีก โดยเปลี่ยนตัวทำละลายจากน้ำมาเป็นเอทิลแอลกอฮอล์ และคาร์บอนเตตระคลอไรด์ และทำการทดสอบเช่นเดียวกัน

1.2 ปฏิริยาการเผาไหม้ (combustion)

เป็นปฏิกิริยาของออกซิเจน (O_2) ซึ่งจะเกิดสมบูรณกับสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่อิมตัวได้สารผลิตภัณฑ์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ

ข้อควรระวัง

สารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่เป็นสารที่ติดไฟและไอของสารเป็นพิษต่อร่างกายและสามารถดูดซึมได้ทางผิวหนัง (ทำในตู้ควัน)

วิธีการทดลอง

1. เตรียมกระจกนาฬิกา 2 อัน
อันที่ 1 หยดไซโคลเฮกเซน 5 หยด อันที่ 2 หยดไซโคลเฮกซีน 5 หยด
2. จุดไม้ขีดไฟ สังเกตสีของเปลวไฟและเขม่าไฟ บันทึกผลการทดลอง

1.3 ปฏิริยากับสารละลายโบรมีนในคาร์บอนเตตระคลอไรด์ (bromination)

ใส่สารละลาย Br_2/CCl_4 ลงในหลอดทดลอง 2 หลอด ๆ ละ 10 หยด เติมไซโคลเฮกเซน ลงในหลอดทดลองหลอดละ 10 หยด ปิดปาก หลอดทั้งสองด้วยจุกคอร์ก แล้วเขย่าของเหลวในหลอดให้ผสมกัน นำหลอดหนึ่งไปไว้ในที่มืด (ในตู้) และอีกหลอดหนึ่งนำไปวางให้ถูกแสง ตั้งหลอดทั้งสองนี้ทิ้งไว้นานประมาณ 30 นาที แล้วจึงนำหลอดทั้งสองนี้มาเปรียบเทียบสีของ ๆ เหลวในหลอด นำหลอดไปวางในตู้ควันแล้วเปิดจุก นำกระดาษลิตมัสสีน้ำเงินที่ขึ้นม้างเหนือปากหลอดทั้งสอง เพื่อตรวจดูว่าหลอดใดมีแก๊สไฮโดรเจนโบรไมด์ (HBr) เกิดขึ้นบ้าง บันทึกผล

ทำการทดลองซ้ำ โดยใช้ไซโคลเฮกซีน แทนไซโคลเฮกเซน

1.4 ปฏิริยากับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

ใส่ไซโคลเฮกเซน ลงในหลอดทดลอง 1 mL แล้วเติมสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ลงไป 5 หยด สังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายหลังจากตั้งทิ้งไว้ 3 นาที บันทึกผล

ทำซ้ำอีกครั้งโดยใช้ไซโคลเฮกซีน แทนไซโคลเฮกเซน

1.5 ปฏิริยาภิกรดซัลฟวริกซั่มซัน

ใส่กรดซัลฟวริกซั่มซัน 1 mL ลงในซังสองที่แห้ง ค่อย ๆ หยดไซโคลเฮกเซนลงไป 3-4 หยด เขย่า สังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น เช่น มีการเปลี่ยนสี หรือความร้อนเกิดขึ้น ของเหลวแยกชั้นหรือรวมเป็นชั้นเดียวกัน

ทำซ้ำอีกครั้งโดยใช้ไซโคลเฮกซีน แทนไซโคลเฮกเซน

2. แอลกอฮอล์

2.1 ทดสอบการละลาย

ใส่น้ำในหลอดทดลอง 2 หลอด ๆ ละประมาณ 2 mL เติมเมทิลแอลกอฮอล์ลงในหลอดที่หนึ่งประมาณ 10 หยด เขย่า หลอดที่สองเติมเอมิลแอลกอฮอล์ ประมาณ 10 หยด เขย่า สังเกตดู ว่าแอลกอฮอล์ทั้งสองชนิดนี้ละลายในน้ำหรือไม่

ทำการทดสอบการละลายของแอลกอฮอล์ทั้งสองชนิดนี้อีก โดยเปลี่ยนตัวทำละลายจากน้ำมาเป็น คาร์บอนเตตระคลอไรด์

ความสามารถในการละลายของแอลกอฮอล์มีความสัมพันธ์กับสภาพขั้วของตัวทำละลาย และความยาวของโซ่คาร์บอนในแอลกอฮอล์หรือไม่ อย่างไร

2.2 ปฏิริยาภิกรดคาร์บอกซิลิก

ใส่เอทิลแอลกอฮอล์ลงในหลอดทดลอง 5 หยด แล้วหยดกรดเกลเซียมอะซิติกลงไป 4 หยด (ทำในตู้ควัน) เติมกรดซัลฟวริกซั่มซัน 1 หยด สารใหม่ที่เกิดขึ้นจัดเป็นสารอินทรีย์พวกใด มีกลิ่นหรือไม่

2.3 ปฏิริยาภิกรดลูคัสรีเอเจนต์

ใส่ลูคัสรีเอเจนต์ลงในหลอดทดลอง 4 หลอด ๆ ละ 2 mL หยดสารแต่ละชนิดที่ต้องการทดสอบลงไปในแต่ละหลอด ๆ ละ 5 หยด เขย่า ตั้งทิ้งไว้ สังเกตและบันทึกระยะเวลาที่ของเหลวในแต่ละหลอดเริ่มขุ่นหรือแยกเป็นสองชั้น

สารที่จะทดสอบได้แก่ นอร์มอลบิวทิลแอลกอฮอล์ 2°-บิวทิลแอลกอฮอล์ 3°-บิวทิลแอลกอฮอล์ และไซโคลเฮกซานอล

2.4 ปฏิกริยากับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

ใส่สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ลงในหลอดทดลอง 3 หลอด ๆ ละ 1 mL หยดสารแต่ละชนิดที่ต้องการทดสอบลงไปในแต่ละหลอด ๆ ละ 10 หยด เขย่า สังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น

สารที่ต้องการทดสอบคือ นอร์มอลบิวทิลแอลกอฮอล์ 2°-บิวทิลแอลกอฮอล์ 3°-บิวทิลแอลกอฮอล์

3. แอลดีไฮด์และคีโตน

3.1 ปฏิกริยากับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

ใส่สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 1 mL ลงในหลอดทดลอง แล้วเติมฟอร์มาลีน 2 หยด เขย่า สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสี ภายหลังจากตั้งทิ้งไว้ 3 นาที

ทำการทดลองซ้ำเหมือนเดิมทุกประการ แต่เปลี่ยนสารที่ใช้ทดสอบจากฟอร์มาลีนมาเป็นอะซีโตนและเบนซอลดีไฮด์

3.2 ปฏิกริยากับทอลเลนรีเอเจนต์

ใส่ 0.1 M AgNO_3 ลงในหลอดทดลอง 1 mL แล้วหยด 2 M NH_4OH 4 หยด ลงไปที่ละหยดพร้อมเขย่า เติมจนกระทั่งตะกอนที่เกิดขึ้น ตอนแรกละลายหมดไป หยดฟอร์มาลีนลงไป 2 หยด เขย่า นำหลอดทดลองนี้ไปอุ่นใน water bath สังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น

ทำการทดลองซ้ำเหมือนเดิมทุกประการ แต่เปลี่ยนสารที่ใช้ทดสอบจากฟอร์มาลีนมาเป็นอะซีโตนและเบนซอลดีไฮด์

3.3 ปฏิกริยากับ 2,4-dinitrophenyl hydrazine

ใส่ 2,4-dinitrophenyl hydrazine ลงไปในหลอดทดลอง 10 หยด หยดฟอร์มาลีนลงไป 2-3 หยด แล้วเขย่า สังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น

ทำการทดลองซ้ำเหมือนเดิมทุกประการ แต่เปลี่ยนสารที่ใช้ทดสอบจากฟอร์มาลีนมาเป็นอะซีโตนและเบนซอลดีไฮด์

บันทึกผลการทดลอง

รายงานการปฏิบัติการเรื่อง.....

ชื่อผู้ทำการทดลอง

1.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

2.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

3.....รหัส.....คณะ/สาขา.....

วันที่ทำการทดลอง.....

อาจารย์ผู้ควบคุม

1.....

2.....

วัตถุประสงค์

1.....

2.....

ผลการทดลอง

ทดสอบปฏิกิริยาของอัลเคนและอัลคีน

ไซโคลเฮกเซนมีลักษณะดังนี้ สถานะ.....กลิ่น.....

สี.....จุดเดือด.....องศาเซลเซียส

ไซโคลเฮกซีนมีลักษณะดังนี้ สถานะ.....กลิ่น.....

สี.....จุดเดือด.....องศาเซลเซียส

1. การทดสอบสมบัติของสารประกอบไฮโดรคาร์บอน

1.1 การละลาย (ใช้เครื่องหมาย ถูก ในกรณีที่ละลาย และ ผิด ในกรณีที่ไม่ละลาย)

หลอดที่บรรจุ	ตัวทำละลาย	ละลาย	ไม่ละลาย
ไซโคลเฮกเซน	H ₂ O		
	C ₂ H ₅ OH		
	CCl ₄		
ไซโคลเฮกซีน	H ₂ O		
	C ₂ H ₅ OH		
	CCl ₄		

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

1.2 การเผาไหม้

หลอดที่บรรจุ	ผลที่เกิดขึ้น
ไซโคลเฮกเซน	
ไซโคลเฮกซีน	

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

1.3 ปฏิกริยากับสารละลายโบรมีนในคาร์บอนเตตระคลอไรด์

หลอดที่บรรจุ	ที่มีด	ที่สว่าง	เกิดแก๊ส HBr หรือไม่	
			ที่มีด	ที่สว่าง
ไซโคลเฮกเซน				
ไซโคลเฮกซีน				

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

1.4 ปฏิริยาภิกับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกานต

หลอดที่บรรจุ	ผลที่เกิดขึ้น
ไซโคลเฮกเซน	
ไซโคลเฮกซีน	

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

1.5 ปฏิริยาภิกับกรดซัลฟิวริก

หลอดที่บรรจุ	ผลที่เกิดขึ้น
ไซโคลเฮกเซน	
ไซโคลเฮกซีน	

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

2. ทดสอบสมบัติของแอลกอฮอล์

2.1 ทดสอบการละลาย (ใช้เครื่องหมาย ถูก ในกรณีที่ละลาย และ ผิด ในกรณีที่ไม่ละลาย)

แอลกอฮอล์ที่บรรจุ	ตัวทำละลาย	ละลาย	ไม่ละลาย
CH ₃ OH	H ₂ O		
	CCl ₄		
C ₅ H ₁₁ OH	H ₂ O		
	CCl ₄		

สรุปผลการทดลอง (ในเชิงสมบัติความเป็นขั้วของตัวทำละลายต่อความขงของไว์คาร์บอนในแอลกอฮอล์)

.....

.....

.....

.....

2.2 ปฏิกริยากับกรดคาร์บอกซิลิก

เมื่อให้เอทิลแอลกอฮอล์ที่ปฏิกริยากับกรดอะซิติกแอซิด โดยมีกรดซัลฟิวริกเข้มข้นเป็นตัวเร่ง (catalyst) สารใหม่ที่เกิดขึ้นนี้จัดอยู่ในสารอินทรีย์พวกใด และมีกลิ่นหรือไม่

.....

.....

2.3 ปฏิกริยากับลิวส์รีเอเจนต์

สารที่ใช้	ระยะเวลาที่ของเหลวเริ่มขุ่นหรือแยกเป็น 2 ชั้น
<i>n</i> -butyl alcohol	
<i>s</i> -butyl alcohol	
<i>t</i> -butyl alcohol	
cyclohexanol	

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

2.4 ปฏิกริยากับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

สารที่ใช้	ระยะเวลาที่ของเหลวเริ่มขุ่นหรือแยกเป็น 2 ชั้น
<i>n</i> -butyl alcohol	
<i>s</i> -butyl alcohol	
<i>t</i> -butyl alcohol	

3. แอลดีไฮด์และคีโตน

3.1 ปฏิกริยากับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

สารที่ใช้	ผลที่เกิดขึ้น
ฟอร์มัลดีน	
อะซีโตน	
เบนซอลดีไฮด์	

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

3.2 ปฏิกริยากับทอลูเอินรีเอเจนต์

สารที่ใช้	ผลที่เกิดขึ้น
ฟอร์มัลลิน	
อะซีโตน	
เบนซอลดีไฮด์	

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

3.3 ปฏิกริยากับ 2,4-dinitrophenyl hydrazine

สารที่ใช้	ผลที่เกิดขึ้น
ฟอร์มัลลิน	
อะซีโตน	
เบนซอลดีไฮด์	

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

คำถามท้ายการทดลอง

1. ทำไมปฏิกิริยาโบรมิเนชันของไซโคลเฮกเซนในที่มีดกับในที่สว่างมาก จึงแตกต่างกัน
2. โบรมีนในคาร์บอนเตตระคลอไรด์ จะใช้บอกความแตกต่างระหว่างอัลเคนและอัลคีนได้อย่างไร อธิบายให้ชัดเจน
3. จงบอกถึงความแตกต่างของปฏิกิริยาการแทนที่ (substitution reaction) กับปฏิกิริยาการเติม (addition reaction) พร้อมทั้งยกตัวอย่างประกอบ

บรรณานุกรม

- เครื่องวัดค่า pH. 2553. http://nano-machinery.com/catalog/products_new.php/language/th/page/3 (13 เม.ย. 2553).
- วัชร ชาทกิตติคุณวงศ์. 2543. **ปฏิบัติการเคมี 1**. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง. พิมพ์ครั้งที่ 7. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยรามคำแหง.
- ทะยานรุ่ง เหลือสินทรัพย์. **ปฏิบัติการเคมี 1**. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยรามคำแหง.
- ประเสริฐ ศรีไพโรจน์. 2544. **เทคนิคทางเคมี**. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพมหานคร: ประกายพริก.
- จิตยา ศรขวัญ. 2548. **คู่มือปฏิบัติการ ปฏิบัติการเคมีทั่วไป 1 13-022-109**. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี. พิมพ์ครั้งที่ 1. ปทุมธานี: เอส. เอ็ม. เอส การพิมพ์.
- จิตยา ศรขวัญ. 2548. **คู่มือปฏิบัติการ ปฏิบัติการเคมีทั่วไป 2 113-022-111**. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี. พิมพ์ครั้งที่ 1. ปทุมธานี: พระแม่อุมาเทวี การพิมพ์.
- ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2541. **เคมีทั่วไป เล่ม 1**. พิมพ์ครั้งที่ 7. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2542. **เคมีทั่วไป เล่ม 2**. พิมพ์ครั้งที่ 7. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. **หนังสือปฏิบัติการเคมีทั่วไป 2**. 2541. พิมพ์ครั้งที่ 1.

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2537. คู่มือเตรียมปฏิบัติการเคมี.

มานพ อรัญนารถและคณะ. 2541. หนังสือปฏิบัติการเคมีทั่วไป 1. พิมพ์ครั้งที่ 4. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สอนเตรียมสารละลาย. 2553. <http://images.krusa.multiply.multiplycontent.com/attachment/0/S2GL7wooCtUAAE0Gfhw1/%E0%B8%AA%E0%B8%AD%E0%B8%99%E0%B9%80%E0%B8%95%E0%B8%A3%E0%B8%B5%E0%B8%A2%E0%B8%A1%E0%B8%AA%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%A5%E0%B8%B0%E0%B8%A5%E0%B8%B2%E0%B8%A2.ppt?nmid=313072462#295,3>, ภาพนิ่ง 3 (13 เม.ย. 2553).

อำนวย อรุณรุ่งอารีย์และคณะ. ปฏิบัติการเคมี 2. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์รามคำแหง.

Mohr and serological pipette. 2553. [http://www.nmenv.state.nm.us/swq/b/UOCP/WW LabStudy Guide/06.pdf](http://www.nmenv.state.nm.us/swq/b/UOCP/WW%20LabStudy%20Guide/06.pdf) (15 เม.ย. 2553).

ภาคผนวก

1. อุปกรณ์ที่จำเป็นเพื่อให้เกิดความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ

1.1 ระบบระบายอากาศ (Ventilation)

ห้องปฏิบัติการที่มีการใช้สารเคมีควรมีการระบายอากาศที่ดี การระบายอากาศในห้องปฏิบัติการ โดยทั่วไปไม่ควรน้อยกว่า 6 เท่าของขนาดห้อง ต่อชั่วโมง



ภาพที่ ผ.1 แสดงเครื่องระบายอากาศ

1.2 ตู้ดูดควัน (Fume hood)

การปฏิบัติที่เกี่ยวข้องกับสารเคมีอันตราย ต้องทำในตู้ดูดควันเท่านั้น ตู้ดูดควัน ต้องสามารถดูดอากาศได้ไม่น้อยกว่า 80-120 ฟุต /นาทึ เมื่อฝาสู้ (Sash) เปิดที่ระดับ 18 นิ้ว การใช้ตู้ดูดควันควรมีข้อพึงปฏิบัติ ดังนี้

- ระหว่างปฏิบัติงาน ฝาสู้ดูดควัน (Sash) ต้องเปิดไม่เกิน 18 นิ้ว
- อุปกรณ์ สารเคมีที่ใช้ปฏิบัติงานในตู้ดูดควัน ควรอยู่ห่างจากขอบฝาสู้ เข้าไปด้านใน อย่างน้อย 6 นิ้ว
- ควรเปิดพัดลมของตู้ดูดควันให้ทำงานตลอดเวลาที่มีสารเคมีอยู่ภายในตู้ดูดควัน
- ไม่ควรใช้ตู้ดูดควันเป็นที่เก็บสารเคมี



ภาพที่ ผ.2 ตู้ดูดควัน

1.3 ตู้เก็บสารละลายไวไฟ (Flammable liquid storage)

สารเคมีที่ใช้เป็นตัวทำละลาย เช่น Acetone, ether, alcohol รวมทั้งกรด Glacial acetic acid ส่วนใหญ่มักเป็นสารไวไฟ ควรจัดเก็บในที่ห่างจากประกายไฟ รวมทั้งควรแยกเก็บจากสารเคมีอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารเคมีในกลุ่มที่เป็น oxidizer อุปกรณ์ที่ใช้เก็บสารเคมีในกลุ่มนี้ได้แก่ ตู้เก็บสารละลายไวไฟ ในส่วนสารเคมีที่ง่ายต่อการเกิดระเบิดควรเก็บในตู้ แต่แยกให้อยู่บริเวณนอกอาคาร



ภาพที่ ผ.3 ตู้เก็บสารละลายไวไฟ

1.4 อ่างล้างตา และที่ล้างตัวฉุกเฉิน (Emergency eyewash fountain and safety shower)

อ่างล้างตา และที่ล้างตัวฉุกเฉินเป็นอุปกรณ์จำเป็นสำหรับทุกห้องปฏิบัติการ ใช้ในกรณีเกิดอุบัติเหตุสารเคมีอันตรายหกรดตัว หรือกระเด็นเข้าตา ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายถึงขั้นเสียชีวิต หรือทุพพลภาพต่อผู้ปฏิบัติงานได้ สถานที่ติดตั้ง อ่างล้างตา และที่ล้างตัว ควรอยู่ในระยะห่างไม่เกิน 10 วินาที จากจุดปฏิบัติงาน ไม่ควรวางสิ่งของกีดขวางเส้นทาง เพื่อให้ผู้ปฏิบัติงานสามารถเข้าถึงได้ โดยสะดวก ควรใช้ระยะเวลาการล้างตา หรือล้างตัวไม่ต่ำกว่า 15 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าสารเคมีได้ถูกชะล้างจนหมด อ่างล้างตาควรมีการตรวจสอบอย่างน้อยเดือนละ 1 ครั้ง และควรตรวจสอบที่ล้างตัวอย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง



ภาพที่ ผ.4 อ่างล้างตา และที่ล้างตัวฉุกเฉิน

1.5 อ่างล้างอุปกรณ์ (Laboratory sink)

ผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ ต้องล้างมือ ด้วยสบู่ และน้ำสะอาดทุกครั้งภายหลังจากการถอดถุงมือ และเมื่อเสร็จสิ้น การปฏิบัติงาน รวมทั้งเมื่อผิวหนังสัมผัสกับสารเคมี อ่างล้างมือยังใช้ในการล้างอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการที่เปื้อนสารเคมีอีกด้วย



ภาพที่ ผ.5 อ่างล้างอุปกรณ์

นอกจากนี้ในห้องปฏิบัติการ ต้องมีอุปกรณ์ดับเพลิง เช่นถังดับเพลิง ทราย ตู้ยา และอุปกรณ์ปฐมพยาบาลเบื้องต้น

2. อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลในห้องปฏิบัติการ

อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลในห้องปฏิบัติการ ประกอบไปด้วยอุปกรณ์เพื่อป้องกันอันตรายที่อาจเกิดกับลูกตา (Eye protection), เครื่องป้องกันหน้า เสื้อ รองเท้า ถุงมือ และหน้ากากกันสารพิษ เป็นต้น การใช้อุปกรณ์เหล่านี้ควรใช้ควบคู่ไปกับการจัดการและมาตรการด้านความปลอดภัยอื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากไม่มีอุปกรณ์ใดที่สามารถป้องกันอันตรายได้ 100 %

2.1 อุปกรณ์ป้องกันอันตรายที่อาจเกิดกับลูกตา (Eye protection)

อุปกรณ์เหล่านี้ประกอบ ไปด้วยแว่นตาประเภทต่างๆ (Glasses, goggles, shield) ซึ่งมีวัตถุประสงค์ในการใช้เพื่อป้องกันอันตรายในระดับที่แตกต่างกันออกไป อย่างไรก็ตามควรมีการทำ ความสะอาดและตรวจสอบอุปกรณ์เหล่านี้อย่างสม่ำเสมอห้องปฏิบัติการกำหนดให้ผู้ปฏิบัติงาน ต้องใส่แว่นตาตลอดเวลา ยกเว้นหากมีการทดสอบเคมีต้องเปลี่ยนมาใช้ goggles



ภาพที่ ผ.6 แว่นตาใช้ในห้องปฏิบัติการ

2.2 เสื้อคลุมปฏิบัติการ (Laboratory coat)

เสื้อคลุมปฏิบัติการใช้สวมทับชุดปกปิดระหว่างปฏิบัติงาน เพื่อป้องกันการปนเปื้อน จากฝุ่นผง ตลอดจนการหกกระเซ็นของสารเคมี เสื้อนี้ควรใช้เนื้อผ้าที่เป็นผ้าฝ้าย หรือทำจากใยสังเคราะห์ประเภท Tyvek หรือ Nomex ไม่ควรใช้วัสดุประเภท Rayon หรือ Polyester เนื่องจากเป็นวัสดุที่ติดไฟง่าย ซึ่งจะก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้สวมใส่ ควรได้มีการทำความสะอาดเสื้อคลุมปฏิบัติการอย่างสม่ำเสมอ และควรถอดเสื้อนี้ออกทุกครั้งเมื่อออกจากห้องปฏิบัติการเพื่อป้องกันการแพร่กระจายของสารเคมี และห้ามนำเสื้อคลุมปฏิบัติการซักรวมกับเสื้อผ้าชนิดอื่น และห้ามนำกลับไปใช้ที่บ้าน



ภาพที่ ผ.7 เสื้อคลุมปฏิบัติการ

2.3 รองเท้า

ควรสวมรองเท้าตลอดเวลาที่ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ รองเท้าที่ใช้สวมใส่ในห้องปฏิบัติการ ควรเป็นรองเท้าที่ปกปิดนิ้วเท้า อย่างน้อยด้านบนของรองเท้าควรทำจากหนังสัตว์ หรือ วัสดุประเภท Polymeric เพื่อป้องกันเท้ากรณีเกิดการหก กระเซ็นของสารเคมี ทั้งนี้ไม่ควรใส่รองเท้าแตะ รองเท้าผ้า หรือรองเท้าส้นสูงในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ ผ.8 รองเท้าหุ้มส้น

2.4 ถุงมือ

ถุงมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการแบ่งได้เป็นหลายประเภท การจะเลือกใช้ถุงมือประเภทใดขึ้นอยู่กับชนิด และประเภทของสารเคมีที่จะต้องปฏิบัติงานด้วย หลีกเลี่ยงการใช้ถุงมือกันความร้อนหรือความเย็นที่ทำจากวัสดุ Asbestos เนื่องจากเป็นวัสดุที่อาจก่อให้เกิดมะเร็ง (carcinogen) ถุงมือที่ใช้กันสารเคมี ควรทำจากยางธรรมชาติ หรือ วัสดุประเภท Neoprene, Polyvinyl chloride, Nitrile Butyl ถุงมือที่ใช้กับงานทางชีววิทยามักทำจาก Vinyl หรือ Latex อย่างไรก็ตามหลักในทางปฏิบัติที่สำคัญ ก่อนใช้ถุงมือทุกครั้งควรตรวจสอบสภาพของถุงมือก่อนใช้ นอกจากนี้เมื่อเลิกใช้ ก่อนที่จะถอดถุงมือออกควรล้างมือ ถอดถุงมือทุกครั้งเมื่อออกจากห้องปฏิบัติการ และไม่ควรไปจับอุปกรณ์ต่างๆ เช่น ลูกบิดประตู โทรศัพท์ ปากกา ขณะที่ยังสวมใส่ถุงมือ ทั้งนี้เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของสารเคมีไปยังอุปกรณ์เหล่านั้น



ภาพที่ ผ.9 ถุงมือ

2.5 อุปกรณ์ช่วยหายใจ และหน้ากากป้องกันไอระเหย (Respirator and face mask)

อุปกรณ์ช่วยหายใจ และหน้ากากป้องกันไอระเหย เป็นอุปกรณ์ที่ใช้เมื่อต้องปฏิบัติงานกับสารเคมีที่มีไอเป็นอันตรายต่อระบบทางเดินหายใจ เช่น สารละลายแอมโมเนีย สารละลายฟอร์มัลลิน เป็นต้น



ภาพที่ ผ.10 หน้ากากป้องกันไอระเหย

3. ข้อปฏิบัติเมื่อเกิดอุบัติเหตุต่อตัวบุคคล

3.1 ข้อปฏิบัติเมื่อถูกแก้วบาด

- พยายามเช็ดเศษแก้วที่มองเห็นชัดเจนออกจากบริเวณแผล
- ห้ามเลือดโดยใช้ผ้าสะอาดกดที่เส้นเลือด หรือรัดที่บริเวณเส้นเลือดที่นำไปสู่บาดแผลระวังอย่ารัดนานเกินไป
- ทำความสะอาดแผลและใส่ยา ปิดปากแผลให้มิดชิด
- หากแผลใหญ่หรือเลือดไหลไม่หยุดให้นำส่งหน่วยอนามัยหรือแผนกฉุกเฉินของโรงพยาบาลที่ใกล้ที่สุดโดยเร็ว

3.2 ข้อปฏิบัติเมื่อถูกของร้อน

- แช่บริเวณที่ถูกของร้อนในน้ำเย็นจัดหรือปิดแผลด้วยผ้าชุบน้ำจนหายอาการปวดแสบปวดร้อน

- ทายาจีฟ้งสำหรับไฟไหม้ และน้ำร้อนลวก
- หากแผลใหญ่หรือเลือดไหลไม่หยุดให้นำส่งหน่วยอนามัยหรือแผนกฉุกเฉินโรงพยาบาลที่ใกล้ที่สุด

3.3 ข้อปฏิบัติเมื่อสารเคมีหกรดผิวหนัง

- ถอดเสื้อผ้าบริเวณที่เปื้อนสารเคมีออกโดยเร็ว
- เช็ดหรือซับสารเคมีที่หกรดออกให้มากที่สุดโดยเร็ว
- กรณีสารละลายน้ำแต่ไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำให้ล้างบริเวณที่สารหกรดด้วยน้ำไหลปริมาณมาก ๆ เป็นเวลาอย่างน้อย 10 นาที หรือจนแน่ใจว่าชำระล้างสารออกหมดแล้ว หากสารไม่ละลายน้ำให้ล้างด้วยสบู่ ใช้อ่างน้ำ หรือ Safety shower ที่อยู่ใกล้ที่สุด
- หากทราบว่าสารที่หกรดคืออะไรดำเนินการต่อไปตามข้อกำหนดเฉพาะของแต่ละสารตาม Material Safety Data Sheet (MSDS) หรือตามแนวทางข้างล่าง ในกรณีที่รุนแรงควรพบแพทย์ทันที

3.3.1 กรณีทราบชนิดสารที่หกรดผิวหนัง

- กรด หลังจากล้างน้ำแล้วให้ชะล้างด้วยสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตเจือจาง
- เบส หลังจากล้างน้ำแล้วให้ชะล้างด้วยสารละลายกรดแอซิดิกเจือจาง
- ฟีนอล หลังจากล้างน้ำแล้วให้ใช้กลีเซอรินอิมมัตด้วยโบรมีนทา ถ้าปริมาณมาก อาจมีอาการไตวาย (อันตรายถึงชีวิต) ให้รีบส่งโรงพยาบาลทันที
- กรดไฮโดรฟลูออริก ทำให้เกิดแผลที่เจ็บปวดมาก กรดเจือจางจะเห็นผลช้ากว่า ควรหลีกเลี่ยงการใช้ถ้าเป็นไปได้ห้องปฏิบัติการที่ใช้กรดชนิดนี้ควรเตรียมติดต่อสถานพยาบาลไว้ล่วงหน้าในกรณีเกิดเหตุฉุกเฉิน การปฐมพยาบาลเบื้องต้นให้ล้างด้วยน้ำมากๆ และนวดด้วย calcium gluconate gel 2 % ต้องพบแพทย์ในทุกกรณี

3.4 ข้อปฏิบัติเมื่อสารเคมีกระเด็นเข้าตา

- ล้างตาทันทีโดยใช้อ่างล้างตาฉุกเฉิน (eye wash) หรือด้วยน้ำไหลปริมาณมาก ขณะล้างตาต้องพลิกเปลือกตา และกลอกตาไปมาเป็นเวลาอย่างน้อย 10 นาทีหรือจนแน่ใจว่าชำระสารออกหมดแล้ว
- นำส่งโรงพยาบาลโดยเร็ว

3.5 ข้อปฏิบัติเมื่อสูดแก๊สที่เป็นพิษ

เป็นอุบัติเหตุที่ป้องกันได้โดยการใช้ตู้ควัน แก๊สพิษส่วนมาก (ยกเว้น CO) จะมีกลิ่นเป็นสัญญาณเตือนภัย แต่ผู้ปฏิบัติต้องทราบและอย่าฝืนทำงานต่อ เพราะโดยมากจะเสียชีวิตจากการรับกลิ่นไปเมื่อสูดแก๊สเข้าไปถึงระดับหนึ่ง ถ้ารู้สึกตัวว่าอาการไม่ดีให้รีบบอกให้ผู้ร่วมงานทราบ และชี้ให้เห็นว่าอาจเกิดการรั่วไหล แล้วออกมาสูดอากาศบริสุทธิ์ทันที

- นำผู้ประสบอุบัติเหตุออกจากบริเวณอันตรายทันที ผู้ช่วยเหลือต้องสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันตนเอง ได้แก่เครื่องช่วยหายใจ เป็นต้น แก๊สพิษบางชนิดเช่น CO, HCN, NO, COCl₂ และ SO₂ ซึมเข้าผิวหนังได้จึงต้องสวมชุดป้องกันที่เหมาะสมด้วย
- ปลดเสื้อผ้าให้หลวม ให้ออกซิเจนถ้าทำได้
- ถ้าหมดสติให้นอนคว่ำหน้า สังเกตว่าหยุดหายใจหรือไม่
- ถ้าหยุดหายใจ ให้ผายปอด ไม่ควรใช้วิธี mouth-to-mouth โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อสูดแก๊ส HCN เนื่องจากผู้ช่วยเหลือมีโอกาสได้รับพิษสูง
- นำส่งโรงพยาบาลที่ใกล้ที่สุดโดยด่วน

กรณีเฉพาะ

- HCN ให้อากาศบริสุทธิ์ แล้วให้ดม amyl nitrite ทุกๆ 5 นาที ผายปอดถ้าหยุดหายใจ ห้ามใช้วิธี mouth-to-mouth นิดยาระตุ้นหัวใจถ้าจำเป็น แล้วนำส่งโรงพยาบาลโดยด่วน

3.6 ข้อปฏิบัติเมื่อกลืนกินสารเคมี

ควรทำตามคำแนะนำ MSDS อย่างเคร่งครัด หลักการคร่าวๆ คือ ต้องทำให้อาเจียนเพื่อขับสารออกจากร่างกายโดยเร็วที่สุด โดยวิธีการล้วงคอหรือดื่มน้ำเกลือเข้มข้น ขณะอาเจียนจัดท่าให้คว่ำหน้า ศีรษะต่ำกว่าสะโพก ยกเว้น กรณีกลืนสารกัดกร่อนหรือระคายเคืองหรือถ้าระบุใน MSDS ว่าห้ามทำให้เกิดการอาเจียนก็อย่าทำเพราะจะทำให้เกิดความเสียหายเพิ่มขึ้น ในกรณีนี้ต้องให้กินนมหรือถ่านกัมมันต์ กรณีกลืนกินไซยาไนด์ต้องทำให้อาเจียนแล้วให้ดม amyl nitrite ทุกๆ 2-3 นาที และดื่มน้ำกาแฟหรือชาแก่ๆ เพื่อกระตุ้น

***การกลืนกินสารทุกรูปแบบต้องนำส่งแพทย์ทันที**

3.7 ข้อปฏิบัติทั่วไปเพื่อหลีกเลี่ยงอุบัติเหตุต่อตัวบุคคล

- สวมอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลที่เหมาะสมกับระดับอันตรายของงานที่จะทำเสมอ ได้แก่ แว่นตานิรภัย เสื้อคลุมปฏิบัติการ รองเท้าที่ปิดมิดชิด และถุงมือยาง

- การปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องกับแก๊สหรือสารระเหยที่เป็นพิษหรือมีกลิ่นเหม็นต้องทำในตู้ดูดควันและสวมหน้ากากป้องกันแก๊สหรือสารระเหย
- ห้ามเก็บ รับประทานอาหารหรือเครื่องดื่มในห้องปฏิบัติการ และห้ามใช้อุปกรณ์เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการสำหรับใส่อาหารและเครื่องดื่ม
- อย่าทิ้งสิ่งของกะละบริเวณอ่างน้ำ ถึงเวลาจำเป็นจะต้องใช้จะได้มีที่ว่าง
- ตรวจสอบการทำงานของ safety shower และ eye wash อย่างสม่ำเสมอ อย่าวางของกะละในบริเวณดังกล่าว

4. การจัดเก็บสารเคมี

4.1 ฉลากและสัญลักษณ์แสดงระดับอันตราย

ฉลากสารเคมี

สารเคมีที่ซื้อจากแหล่งผลิตจะมีข้อมูลระบุไว้บนฉลาก ข้อมูลเหล่านี้ได้แก่ ชื่อสารเคมี (chemical name) สูตรโมเลกุลของสารเคมี (formular) น้ำหนักโมเลกุล (formular weight) เกรดหรือความบริสุทธิ์ของสารเคมี คุณสมบัติเฉพาะของสารเคมี เช่น จุดเดือด จุดหลอมเหลว จุดวาบไฟ ส่วนประกอบทางเคมี ชื่อ ที่อยู่ และเบอร์โทรศัพท์ของผู้ผลิต/ผู้จำหน่าย สัญลักษณ์แสดงระดับอันตราย อันตรายที่เกี่ยวข้องกับสารเคมี ข้อควรระวังเพื่อความปลอดภัย รหัสบอกรุ่นที่ผลิต ขนาดบรรจุ การเก็บรักษา วันหมดอายุ การใช้งานสารเคมีอย่างปลอดภัย CAS No. Catalogue No. ของสารเคมีจากบริษัทผู้ผลิต Hazard No. เช่น IMO number ซึ่งเป็นเลขที่องค์การพาณิชย์นำวิระหว่างประเทศจัดทำขึ้น เพื่ออ้างอิงวิธีการขนส่งสารเคมี UN number ซึ่งเป็นเลขที่องค์การสหประชาชาติจัดทำขึ้น เพื่อป้องกันอันตรายและวิธีแก้ไขเมื่อเกิดอุบัติเหตุ จึงควรอ่านฉลากก่อนเสมอ ห้ามลอกฉลากสารเคมีเดิมออก หากต้องการใช้สารให้แบ่งถ่ายใส่ภาชนะอื่นไปใช้ในปริมาณที่เหมาะสม ปิดป้ายหรือเขียนระบุวันที่ได้รับและวันที่เปิดใช้สารเคมีครั้งแรกที่ฉลากทุกขวด แต่ห้ามปิดป้ายหรือเขียนทับข้อความบนฉลากเดิม (original label)

ในกรณีที่จำเป็นต้องแบ่งถ่ายใส่ภาชนะอื่น ต้องระบุรายละเอียดบนฉลากดังนี้

- ชื่อสารเคมีและ CAS No.
- สัญลักษณ์หรือข้อความบ่งชี้ประเภทอันตรายของสาร โดยดูจากฉลากเดิม
- วันที่แบ่งถ่าย / วันที่หมดอายุ

- ข้อมูลเตือนให้ระมัดระวังการใช้ เพื่อลดอันตรายและป้องกันอุบัติเหตุ (ถ้ามี) ในกรณีที่เตรียมเป็นสารละลาย (reagent solutions) ต้องระบุรายละเอียดบนฉลาก ดังนี้
- ชื่อสารเคมีและความเข้มข้น
- สัญลักษณ์หรือข้อความบ่งชี้ประเภทอันตรายของสาร โดยดูจากฉลากเดิม
- วันที่เตรียม / วันที่หมดอายุ
- Reference no. (อ้างอิงบันทึกการเตรียมสารละลาย / ผู้เตรียม)
- ข้อมูลเตือนให้ระมัดระวังการใช้ เพื่อลดอันตรายและป้องกันอุบัติเหตุ (ถ้ามี)



ภาพที่ ผ.11 ตัวอย่างฉลากสารเคมี

CAS No. หรือ CAS (Chemical Abstracts Service) Number เป็นรหัสสารเคมีที่กำหนดโดย Chemical Abstracts Service ซึ่งเป็นหน่วยงานของสมาคมเคมีแห่งประเทศไทยสหรัฐอเมริกา (American Chemical Society) เป็นชุดตัวเลขอ้างอิงเฉพาะของสารเคมี ทำหน้าที่คล้ายกับเป็นรหัสประจำตัวเพื่อระบุสารเคมี ประกอบด้วยตัวเลขสูงสุดไม่เกิน 9 หลัก (xxxxxxx-x) โดยแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ

ส่วนแรก ประกอบด้วยตัวเลข 2-6 หลัก

ส่วนที่สอง ประกอบด้วยตัวเลข 2 หลัก

ส่วนสุดท้าย เป็นตัวเลข 1 หลัก

ตัวอย่าง น้ำ มี CAS Number คือ 7732-18-5, D-glucose คือ 50-99-7 และ Acetone คือ 67-64-1 เป็นต้น

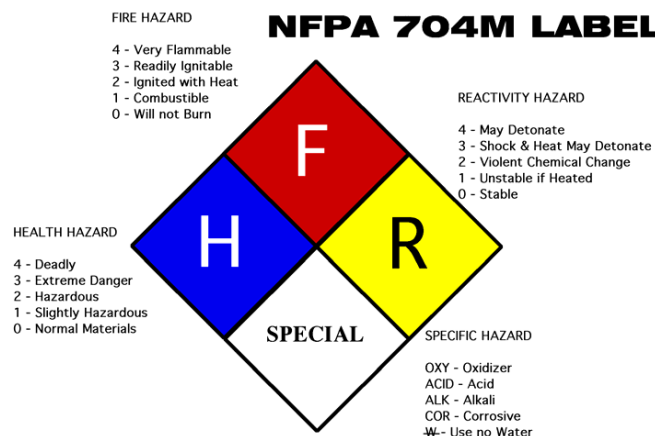
สัญลักษณ์แสดงระดับอันตราย

สัญลักษณ์แสดงระดับอันตรายของสารเคมีมีหลายแบบเนื่องจากมีหลายหน่วยงานจัดทำระบบสัญลักษณ์แสดงระดับอันตรายที่ใช้เป็นสากล มี 3 ระบบ คือ

1. ระบบ NFPA (The National Fire Protection Association) ของสหรัฐอเมริกา
2. ระบบ UN (UN number) ของยุโรป
3. ระบบ EEC (The European Economic Council) หรือ EU ของยุโรป

1. ระบบ NFPA

กำหนดสัญลักษณ์แสดงอันตรายเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสที่วางตั้งตามเส้นทแยงมุมภายใน แบ่งเป็นช่องสี่เหลี่ยมขนาดเท่ากัน จำนวน 4 ช่อง แต่ละรูปสี่เหลี่ยมเป็นพื้น ที่สีแตกต่างกัน คือ สีแดง แสดงระดับอันตรายจากไฟ (Flammability) สีน้ำเงิน แสดงอันตรายต่อสุขภาพ (Health) สีเหลือง แสดงความไวต่อปฏิกิริยาของสาร (Reactivity) สีขาวแสดงคุณสมบัติพิเศษของสาร (Special notice) โดยมีเครื่องหมายเฉพาะกำกับ แสดงดังภาพที่ ผ.12



ภาพที่ ผ.12 สัญลักษณ์แสดงประเภทของสารเคมีและวัตถุอันตรายตามข้อกำหนดของ NFPA

สำหรับแต่ละสีมีตัวเลขแสดงระดับอันตรายจาก 0 ถึง 4 ซึ่งมีรายละเอียดและความหมายดังแสดงในตารางที่ ผ.1

ตารางที่ ผ.1 รายละเอียดและความหมายของตัวเลขในระบบ NFPA

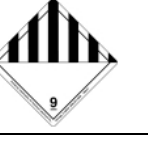
ระดับ	สีแดง ด้านบน (Flammability)	สีน้ำเงิน ด้านซ้าย (Health)	สีเหลือง ด้านขวา (Reactivity)	สีขาว ด้านล่าง (Special notice)
0	ไม่ติดไฟในอากาศ แม้ว่าจะให้ความ ร้อนสูง ถึง 815.5°C นาน 5 นาที	ปลอดภัยมากที่สุดไม่ เป็นอันตรายแม้สัมผัส ยกเว้นกรณีติดไฟ	มีความคงตัวมาก ที่สุด แม้จะได้รับ ความร้อนหรืออยู่ใน สภาพที่ติดไฟได้ ไม่ เกิด ปฏิกิริยากับน้ำ	ตัวย่อแสดงคุณสมบัติเฉพาะตัว ของสาร OX: หมายถึงสารที่มี คุณสมบัติเป็นตัว ออกซิไดซ์ เกิดปฏิกิริยาเคมีให้ ออกซิเจนและ อิเล็กตรอน
1	ต้องให้ความร้อนสูง ก่อนจึงจะติดไฟ และเผาไหม้ใน อากาศได้ เช่น สาร ที่มีจุดวาบไฟสูง กว่า 93.4 °C (> 200 °F)	อาจทำให้เกิดอาการ ระคายเคืองได้ เมื่อ ได้รับในระยะเวลา สั้น และถ้าไม่รักษา อาจทำให้เกิดบาดแผล เล็กน้อยได้	มีความคงตัวในสภาวะ ปกติ แต่ไม่คง ตัวเมื่ออุณหภูมิหรือ ความดันเพิ่มขึ้น สลายตัวเมื่อถูก อากาศ แสงสว่างหรือ ความชื้นทำปฏิกิริยา กับน้ำแล้วเกิดความ ร้อนแต่ไม่รุนแรง	W: หมายถึง สารที่ ทำปฏิกิริยารุนแรง กับน้ำ สารที่ไม่เก็บ หรือให้โดนน้ำ ACID: กรด ALK: ด่าง COR: สารกัดกร่อน RAD: สาร กัมมันตรังสี
2	ต้องใช้ความร้อน ปานกลางจึงจะติด ไฟในอากาศได้ ถ้า มีปริมาณมากพอ อาจก่อให้เกิด บรรยากาศที่เป็น พิษ เช่น	อาจทำให้เกิดทุพพล ภาพชั่วคราวหรือถาวร ได้ เมื่อได้รับสารใน ปริมาณมากพอ หรือ อาจเกิดบาดแผลถ้า ไม่ได้รับการรักษา อย่าง	ปกติไม่คงตัว เกิดปฏิกิริยารุนแรงที่ อุณหภูมิและความดัน ปกติ เกิดปฏิกิริยา รุนแรงกับน้ำ พร้อมทั้ง จะเกิดปฏิกิริยารุน แรง และอาจจะระเบิดได้	

ตารางที่ ผ.1 (ต่อ) รายละเอียดและความหมายของตัวเลขในระบบ NFPA

ระดับ	สีแดง ด้านบน (Flammability)	สีน้ำเงิน ด้านซ้าย (Health)	สีเหลือง ด้านขวา (Reactivity)	สีขาว ด้านล่าง (Special notice)
	ของเหลวที่มีจุดวาบไฟสูงกว่า 37.8 °C แต่ไม่เกิน 93.4 °C (100-200 °F)	ถูกต้องหมายรวมถึงสารที่ต้องใช้เครื่องป้องกันอันตรายต่อระบบหายใจ		
3	ของแข็งหรือของเหลวที่ติดไฟได้ในสภาวะอุณหภูมิห้องปกติ เช่น สารที่มีจุดวาบไฟต่ำกว่า 22.8 °C (< 100 °F) และมีจุดเดือดสูงกว่า 37.8 °C	เกิดอันตรายและบาดเจ็บอย่างร้ายแรงชั่วคราว แม้สูดดมในระยะสั้น ๆ หรือสัมผัสเพียงเล็กน้อย หรือเกิดแผลแม้ได้รับการรักษาอย่างถูกต้องแล้ว	ไม่คงตัวเกิดระเบิดได้เมื่อได้รับความร้อนหรือแรงสั่นสะเทือนที่สูงพอ ทำปฏิกิริยารุนแรงกับน้ำและเกิดระเบิดรุนแรงได้	
4	ไวไฟมากระเหยเป็นไอที่ความดันบรรยากาศและอุณหภูมิห้องและพร้อมที่จะติดไฟเมื่อกระจายตัวผสมอยู่ในอากาศ เช่น ของเหลวที่มีจุดวาบไฟต่ำกว่า 22.8 °C (< 73 °F) หรือมีจุดเดือดต่ำกว่า 37.8 °C	อันตรายมากที่สุดอาจทำให้บาดเจ็บอย่างถาวรหรือตายได้แม้ได้รับเพียงเล็กน้อย หมายรวมถึงสารที่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ป้องกัน	สลายตัวหรือระเบิดด้วยตัวเองได้ที่อุณหภูมิห้อง และความดันปกติ ไวต่อความร้อนและแรงสั่นสะเทือนรุนแรงมากที่สุด จนทำให้เกิดระเบิดกัมปนาทได้	

2. ระบบ UN

องค์การสหประชาชาติ (United Nation) แบ่งวัตถุอันตรายเป็น 9 ประเภท โดยใช้สัญลักษณ์อยู่ในรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสทางด้านมุมลง ดังภาพที่ ผ.13

ประเภทที่ 1 สารระเบิดได้ (Explosives)				
				
ประเภทที่ 2 ก๊าซ (Gases)			ประเภทที่ 3 ของเหลวไวไฟ (Flammable liquids)	
				
ประเภทที่ 4 ของแข็งไวไฟ (Flammable solids)			ประเภทที่ 5 สารให้ออกซิเจนและสาร อินทรีย์เปอร์ออกไซด์ (Oxidizing Agent and Organic Peroxides)	
				
ประเภทที่ 6 สารพิษอันตราย วัสดุติดเชื้อ (Toxics/Poisonous and Infectious Substances)				
				
ประเภทที่ 7 สารกัมมันตรังสี (Radioactive)				
				
ประเภทที่ 8 สารกัดกร่อน (Corrosives)			ประเภทที่ 9 สารอื่นๆที่เป็นอันตราย (Miscellaneous Dangerous Goods)	
				

ภาพที่ ผ.13 สัญลักษณ์แสดงประเภทของสารเคมีและวัตถุอันตรายตามมาตรฐาน UN

1. สารระเบิดได้



หมายถึง ของแข็งหรือของเหลว หรือสารผสมที่สามารถเกิดปฏิกิริยาทาง เคมีด้วย ตัวมันเองทำให้เกิดก๊าซที่มีความดันและความร้อนอย่างรวดเร็วก่อให้เกิดการระเบิดสร้างความเสียหายแก่บริเวณโดยรอบได้ ซึ่งรวมถึงสารที่ใช้ทำดอกไม้เพลิงและสิ่งของที่ระเบิดได้ด้วย

2. ก๊าซ



หมายถึง สารที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีความดันไอมากกว่า 300 กิโลปาสกาลหรือมีสภาพเป็นก๊าซอย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และมีความดัน 101.3 กิโลปาสกาล ได้แก่ ก๊าซอัด ก๊าซพิษ ก๊าซในสภาพของเหลว ก๊าซในสภาพของเหลวอุณหภูมิต่ำ และรวมถึงก๊าซที่ละลายในสารละลายภายใต้ความดัน เมื่อเกิดการรั่วไหลสามารถก่อให้เกิดอันตราย จากการลุกติดไฟ และ/หรือเป็นพิษ และแทนที่ออกซิเจนในอากาศ

3. ของเหลวไวไฟ



หมายถึง ของเหลว หรือของเหลวผสมที่มีจุดวาบไฟ (Flash Point) ไม่เกิน 60.5 องศาเซลเซียสจากการทดสอบด้วยวิธีถ้วยปิด (Closed-cup Test) หรือไม่เกิน 65.6 องศาเซลเซียสจากการทดสอบด้วยวิธีถ้วยเปิด (Opened-cup Test) ไอของเหลวไวไฟพร้อมลุกติดไฟเมื่อมีแหล่งประกายไฟ ตัวอย่างเช่น อะซิโตน น้ำมันเชื้อเพลิงทินเนอร์ เป็นต้น

4. ของแข็งไวไฟ (Flammable Solids) หมายถึง ของแข็งที่สามารถติดไฟได้ง่ายจากการได้รับความ



ร้อนจากประกายไฟเปลวไฟ หรือเกิดการลุกไหม้ได้จากการเสียดสี ตัวอย่างเช่น กำมะถัน



สารที่มีความเสี่ยงต่อการลุกไหม้ได้เอง (Substances Liable to Spontaneous Combustion) หมายถึง สารที่มีแนวโน้มจะเกิดความร้อนจะลุกไหม้ได้ ขึ้นได้เอง ในขนส่งตามปกติหรือได้เมื่อสัมผัสกับอากาศ



สารที่สัมผัสกับน้ำแล้วทำให้เกิดก๊าซไวไฟ (Substances which in Contact with Water Emit Flammable Gases) หมายถึง สารที่ทำปฏิกิริยากับน้ำแล้ว มีแนวโน้มที่จะเกิดการติดไฟได้เอง หรือทำให้เกิดก๊าซไวไฟในปริมาณที่เป็นอันตราย

5. สารออกซิไดส์ (Oxidizing Substances) หมายถึง ของแข็ง ของเหลว ที่ตัวของสารเองไม่ติดไฟ



แต่ให้ออกซิเจนซึ่งช่วยให้วัตถุอื่นเกิดการลุกไหม้ และอาจก่อให้เกิดไฟเมื่อสัมผัสกับสารที่ลุกไหม้และเกิดการระเบิดอย่างรุนแรง ตัวอย่างเช่น แคลเซียมไฮโปคลอไรท์ โซเดียมเปอร์ออกไซด์ โซเดียมคลอเรต



สารอินทรีย์เปอร์ออกไซด์ (Organic Peroxides) หมายถึง ของแข็งหรือของเหลวที่มีโครงสร้างออกซิเจนสองอะตอม -O-O- และช่วยในการเผาไหม้ที่ลุกไหม้ หรือทำปฏิกิริยากับสารอื่นแล้วก่อให้เกิดอันตรายได้ หรือเมื่อได้รับความร้อนหรือลุกไหม้แล้วภาชนะบรรจุสารนี้อาจระเบิดได้ ตัวอย่างเช่น อะซิโตนเปอร์ออกไซด์ เป็นต้น

6. สารพิษอันตราย วัสดุติดเชื้อ



สารพิษ (Toxic Substances) หมายถึง ของแข็ง หรือของเหลว ที่สามารถทำให้เสียชีวิตหรือบาดเจ็บรุนแรงต่อสุขภาพของคน หากกลืน สูดดมหรือหายใจรับสารนี้เข้าไป หรือเมื่อสารนี้ได้รับความร้อนหรือลุกไหม้จะปล่อยก๊าซพิษ ตัวอย่างเช่น โซเดียมไซยาไนด์ กลุ่มสารกำจัดแมลงศัตรูพืชและสัตว์ เป็นต้น



สารติดเชื้อ (Infectious Substances) หมายถึง สารที่มีเชื้อโรคปนเปื้อน หรือสารที่มีตัวอย่างการตรวจสอบของพยาธิสภาพปนเปื้อนที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคในสัตว์และคน ตัวอย่างเช่น แบคทีเรียเพาะเชื้อ เป็นต้น

7. สารกัมมันตรังสี (Radioactive) หมายถึง วัสดุที่สามารถแผ่รังสีที่มองไม่เห็นอย่างต่อเนื่อง



มากกว่า 0.002 ไมโครคูรีต่อกรัม ตัวอย่างเช่น โมนาไซต์
ยูเรเนียม โคบอลต์-60 เป็นต้น

8. สารกัดกร่อน (Corrosives)



หมายถึง ของแข็ง หรือของเหลวซึ่งโดยปฏิกิริยาเคมีมีฤทธิ์กัดกร่อนทำความเสียหายต่อเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตอย่างรุนแรง หรือทำลายสินค้า/ยานพาหนะที่ทำการขนส่งเมื่อเกิดการรั่วไหลของสาร ไอระเหยของสารประเภทนี้บางชนิดก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อจมูกและตา ตัวอย่างเช่น กรดเกลือ กรดกำมะถัน โซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นต้น

9. สารอื่นๆที่เป็นอันตราย (Miscellaneous Dangerous Goods) หมายถึง สารหรือสิ่งของที่อยู่ในขณะ



ขนส่งเป็นสารอันตรายซึ่งไม่จัดอยู่ในประเภทที่ 1 ถึงประเภทที่ 8 ตัวอย่างเช่น ปุ๋ยแอมโมเนียมไนเตรด เป็นต้น และให้รวมถึงสารที่ต้องควบคุมให้มีอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียสในสภาพของเหลว หรือมีอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 240 องศาเซลเซียสในสภาพของแข็งในระหว่างการขนส่ง

1.3 ระบบ EEC (EU)

ตามข้อกำหนดของ EEC ที่ 67/548/EEC สัญลักษณ์แสดงอันตรายเป็นรูปภาพสีดำบนพื้นสีเหลี่ยมจัตุรัสสีส้มดังภาพที่ ผ.14 มีอักษรย่อกำกับที่มุมขวาบน อักษรย่อแบ่งประเภทของสารเคมีดังนี้

คลาส E	สารระเบิดได้ (explosive) สัญลักษณ์รูปแสดงการระเบิด
คลาส F/F+	สารไวไฟ/ไวไฟสูงมาก (flammable/highly flammable) สัญลักษณ์รูปเปลวไฟ

คลาส O	สารออกซิไดส์ (oxidizing agent) สัญลักษณ์รูปเปลวไฟบนวงกลม
คลาส T/T+	เป็นพิษ/เป็นพิษมาก (toxic/highly toxic) สัญลักษณ์รูปกระดูกไขว้
คลาส X _n	เป็นอันตราย (harmful) สัญลักษณ์รูปกากบาท
คลาส X _i	สารระคายเคือง (irritant) สัญลักษณ์รูปกากบาท
คลาส C	สารกัดกร่อน (corrosive) สัญลักษณ์เป็นรูปของเหลวหกจากหลอดทดลองถูกมือและโลหะ
คลาส N	เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม สัญลักษณ์เป็นรูปต้นไม้และปลาตาย

ประเภท	สัญลักษณ์	ประเภทที่บ่งบอก ความเสี่ยงที่เกิดขึ้น	สัญลักษณ์
ระเบิดได้ (explosive)		ไวไฟมาก (flammable)	
ให้ออกซิเจน (oxidizing)		เป็นพิษ (toxic)	
อันตราย (harmful)		ระคายเคือง (irritant)	
กัดกร่อน (corrosive)		เป็นอันตรายต่อ สิ่งแวดล้อม (dangerous for the environment)	

ภาพที่ ๑๔.14 สัญลักษณ์แสดงประเภทของสารเคมีและวัตถุอันตรายตามระบบ EEC (EU)

ตารางที่ ผ.2 อินดิเคเตอร์บางชนิดสำหรับกรด-เบส

อินดิเคเตอร์ การเปลี่ยนสี	pH range (กรด-เบส)	ความเข้มข้น นน. เป็นกรัมต่อปริมาตร 100 ลบ.ซม.	ตัวทำละลาย
Thymol blue	1.2-2.8 แดง-เหลือง	0.1	20% ethanol
Methyl yellow	2.9-4.0 แดง-เหลือง	0.1	90% ethanol
Methyl orange	3.1-4.4 แดง-เหลือง	0.1	น้ำ
Bromophenol blue	3.0-4.6 เหลือง-น้ำเงิน	0.1	20% ethanol
Bromocresol green	3.8-5.4 เหลือง-น้ำเงิน	0.1	20% ethanol
Methyl red	4.2-6.2 แดง-เหลือง	0.1	60% ethanol
Bromocresol purple	5.2-6.8 เหลือง-ม่วง	0.1	60% ethanol
Bromothymol blue	6.0-7.6 เหลือง-น้ำเงิน	0.05-0.1	20% ethanol
Natural red	6.8-8.4 เหลือง-แดง	0.1	60% ethanol
Phenolphthalein	8.2-10.0 ไม่มีสี-แดง	0.1-1.0	60% ethanol
Thymolphthalein	9.3-10.5 ไม่มีสี-น้ำเงิน	0.04	50% ethanol
Alizarin yellow	10.1-12.0 เหลือง-แดง	0.1	90% ethanol

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	ดร. ลักษมี วิทยา
คุณวุฒิ	ปร.ค. (เคมี) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์: 2551
หน้าที่รับผิดชอบ	สอนรายวิชาเคมีทั่วไป ปฏิบัติการเคมีทั่วไป เคมีอินทรีย์ ปฏิบัติการเคมีอินทรีย์ เคมีอินทรีย์ 1 ปฏิบัติการเคมีอินทรีย์ 1 การวิเคราะห์โดยเครื่องมือ ปฏิบัติวิเคราะห์โดยเครื่องมือ เคมีอินทรีย์และปฏิบัติการเคมีอินทรีย์
หน่วยงานที่สังกัด ประจำ	สาขาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง
ประสบการณ์/ความเชี่ยวชาญ	มีความชำนาญงานด้านการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อน การ ใช้เครื่องมือทางสเปกโทรสโกปี เพื่อยืนยันโครงสร้างสารและ การประยุกต์ใช้

หนังสือตอบรับการเป็นผู้ทรงคุณวุฒิเพื่อประเมินตำรา

ตามที่คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
เรียนเชิญข้าพเจ้าเป็นคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิทำหน้าที่ประเมินผลงานทางวิชาการ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง เพื่อการรับรองคุณภาพประเภท งานแต่ง เรียบเรียง
ตำรา หรือหนังสือ ของ ดร.ลักษมี วิทยา เรื่อง ปฏิบัติการเคมีทั่วไป นั้น ข้าพเจ้าได้รับทราบแล้ว และ

- ☒ ยินดีพิจารณาผลงานทางวิชาการ
☐ ไม่สามารถพิจารณาผลงานทางวิชาการได้

ในการนี้ ข้าพเจ้าได้ให้ที่อยู่ซึ่งสามารถติดต่อได้สะดวก (พร้อมหมายเลขโทรศัพท์)
ในโอกาสต่อไป ดังนี้

.....
.....
.....

สาขาอื่นที่สามารถพิจารณาได้.....

.....

ปัจจุบันดำรงตำแหน่งทางวิชาการ ☐ อาจารย์ ☒ ผศ. ☐ รศ. ☐ ศ.

คุณวุฒิทางการศึกษา/สาขาวิชา/สถาบันการศึกษา..... ปรพ. (๐๓) สาขาวิชา ๖๐๓/๖๐๓/๖๐๓/๖๐๓

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลงชื่อ..... ๖๗๘

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญศรี เพ็ญประไพ)

วันที่ ๒๒ / พ.ค. / ๖๖

สำนักงานคณบดี

โทร. ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

โทรสาร ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

แบบประเมินตำรา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

1. ข้อมูลเบื้องต้นของตำรา

ตำรานี้ใช้สำหรับการเรียนการสอนในรายวิชา ปรัชญา การเคหะกิจ
ระดับ ปริญญาตรี ภาคเรียน

คณะ/วิทยาลัย วิทยาศาสตร์ (ค.บ.เทคโนโลยีการประมง)

2. เกณฑ์สำหรับประเมิน

2.1 ความถูกต้องและความทันสมัยของเนื้อหา หมายถึง เนื้อหาถูกต้องตามหลักวิชาการของศาสตร์ในสาขาวิชานั้น ๆ และความถูกต้องนั้นเป็นที่ยอมรับกันว่าถูกต้องในปัจจุบัน สิ่งที่ควรพิจารณา เช่น ทฤษฎี สูตร กฎการทดลอง ข้อมูล การตีความหมาย หลักฐานการอ้างอิง ศักยภาพ ฯลฯ (ยกเว้นการเสนอ กฎ หรือทฤษฎี แนวคิดใหม่)

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.2 ความสมบูรณ์และความลึก หมายถึง ความครบถ้วนของเนื้อหาหรือเรื่องราวที่ถือเป็นขอบข่ายของชื่อตำราแต่ละบทแต่ละตอน ประกอบด้วยรายละเอียดซึ่งเป็นหลักวิชาการของศาสตร์ ในสาขาวิชานั้น ๆ มีคำอธิบายและตัวอย่าง เพื่อขยายหลักวิชาอย่างละเอียดถี่ถ้วน ควรมีส่วนประกอบที่สำคัญของตำรา เช่น คำนำ สารบัญ ตาราง บัญชีภาพหรือแผนภูมิประกอบ ฯลฯ ซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่การอ่าน การค้นหาในโอกาสต่อไป

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.3 การจัดเรียงลำดับเนื้อหา หมายถึง ลำดับขั้นตอนในการเสนอเรื่องราวที่จะสอน เพื่อความเข้าใจง่ายของผู้เรียน หรือ ผู้อ่าน

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.4 รูปแบบในการเขียน หมายถึง ในแต่ละเรื่องที่เขียนระบุความคิดรวบยอดของเรื่องชัดเจนและมีการอธิบายขยายความคิดรวบยอดนั้น ๆ ในลักษณะสามารถสื่อความหมายได้ดีพอสมควร อาจมีภาพ แผนภูมิ ตาราง ฯลฯ ประกอบเพื่อความเข้าใจและให้น่าสนใจ มีความประณีตในการจัดวรรคตอนแต่ละช่องไฟ มีการอ้างอิงแหล่งวิชาการในที่ควรอ้างอิง มีแบบแผนในการเขียนอ้างอิงจัดทำบรรณานุกรมและภาคผนวกไว้อย่างเหมาะสม

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.5 การศึกษาค้นคว้าเพื่อสนับสนุนการเขียนตำรา หมายถึง ปริมาณการศึกษาค้นคว้าตำรา เอกสาร และ/หรือ รายงานการวิจัยที่จะช่วยให้ผู้เรียนมีความรู้ความสามารถ ในรายวิชานั้น หรือให้ผู้อ่านได้มีความรู้และสามารถสืบค้นเพิ่มเติมได้อย่างกว้างขวาง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.6 ความเหมาะสมและความถูกต้องในการใช้ภาษา หมายถึง การใช้ภาษาในการเขียนเป็นแบบแผนของภาษาไทย ใช้ศัพท์บัญญัติ ศัพท์ทางเทคนิค รวมทั้งตัวสะกด การันต์ ถูกต้อง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.7 การเสนอแนวคิดของตนเอง หมายถึง การสอดแทรกความคิด ความเห็นเพิ่มเติมในตอนต่าง ๆ ของเรื่อง อาจจะเป็นข้อวิพากษ์วิจารณ์ คำสรุป ข้อเสนอแนะ การประยุกต์เนื้อหาสาระต่าง ๆ รวมทั้งแนวคิดและความรู้ใหม่ที่เกิดจากการวิเคราะห์และสังเคราะห์

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.8 คุณค่าของตำรา หมายถึง ประโยชน์ ความสำคัญและความเชื่อถือได้ ในการที่นำตำรา ไปใช้ประกอบการสอน หรือใช้เพื่อสื่อการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม และใช้อ้างอิง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.9 ความเห็นอื่น ๆ

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

3. สรุปผลการประเมินตำรา

(โดยจะต้องสอดคล้องกับเกณฑ์การประเมินในข้อ 2.1-2.8)

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะและส่งผลงานให้อ่านใหม่อีกครั้ง
3. ☐ ต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะก่อนเผยแพร่ผลงานครั้งใหม่
4. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

4. สรุปผลประเมิน โปรดสรุปผลการประเมินผลงานตำรา และเสนอความคิดเห็นด้วย
(โปรดดูตัวอย่าง)

ตำราเรื่อง ภารกิจและหน้าที่ของ มีเนื้อหาคุณภาพอยู่ในเกณฑ์ดีมาก เป็นหนังสือ
งานวิชาการที่ทันสมัยและน่าสนใจ แลวก่อนใช้ก็ได้ การเรียบเรียงและนำเสนอในทางที่ดี
ในฉบับนี้

.....

.....

.....

ลงชื่อ..... 67/5 กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิฯ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญศรี เพ็ญประไพ)
26 / พค / ๖7

ตัวอย่าง (การบันทึกสรุปของผู้อ่าน)

ตำราเรื่อง.....นี้มีเนื้อหาเกี่ยวกับ.....

มีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์ดีมาก ได้เสนอความคิดใหม่ที่น่าเป็นไปได้เกี่ยวกับ.....

ได้สำรวจความคิดเห็นของบุคคลต่าง ๆ รวมทั้งได้ประมวลและสรุปไว้ชัดเจน ซึ่งถือเป็นงานที่มีความคิดริเริ่ม อันอาจนำไปใช้ประโยชน์และก่อให้เกิดการพัฒนาการเรียนการสอนในสาขาวิชานี้ได้เป็นอย่างดี

หนังสือตอบรับการเป็นผู้ทรงคุณวุฒิเพื่อประเมินตำรา

ตามที่คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
เรียนเชิญข้าพเจ้าเป็นคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิทำหน้าที่ประเมินผลงานทางวิชาการ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง เพื่อการรับรองคุณภาพประเภท งานแต่ง เรียบเรียง
ตำรา หรือหนังสือ ของ ดร.ลักษมี วิทยา เรื่อง ปฏิบัติการเคมีทั่วไป นั้น ข้าพเจ้าได้รับทราบแล้ว และ

- ☒ ยินดีพิจารณาผลงานทางวิชาการ
☐ ไม่สามารถพิจารณาผลงานทางวิชาการได้

ในการนี้ ข้าพเจ้าได้ให้ที่อยู่ซึ่งสามารถติดต่อได้สะดวก (พร้อมหมายเลขโทรศัพท์)
ในโอกาสต่อไป ดังนี้

สาขาอื่นที่สามารถพิจารณาได้.....

ปัจจุบันดำรงตำแหน่งทางวิชาการ ☐ อาจารย์ ☒ ผศ. ☐ รศ. ☐ ศ.

คุณวุฒิทางการศึกษา/สาขาวิชา/สถาบันการศึกษา..... จก.ผ (การศึกษาศาสตร - 1ดม)
สภามั่น เทคโนโลยี พรมขมเกล้า ศึกษาน ทนท สดกทม

ลงชื่อ.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์มาลินี ฉินนานนท์)

วันที่ ...28.../...พ.ค.../51...

สำนักงานคนบดี

โทร. ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

โทรสาร ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

แบบประเมินตำรา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

1. ข้อมูลเบื้องต้นของตำรา

ตำรานี้ใช้สำหรับการเรียนการสอนในรายวิชา.....คณิตศาสตร์ทั่วไป
ระดับ.....ปริญญาตรี.....ภาคเรียน.....
คณะ/วิทยาลัย.....วิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

2. เกณฑ์สำหรับประเมิน

2.1 ความถูกต้องและความทันสมัยของเนื้อหา หมายถึง เนื้อหาถูกต้องตามหลักวิชาการของศาสตร์ในสาขาวิชานั้น ๆ และความถูกต้องนั้นเป็นที่ยอมรับกันว่าถูกต้องในปัจจุบัน สิ่งที่ควรพิจารณา เช่น ทฤษฎี สูตร กฎการทดลอง ข้อมูล การตีความหมาย หลักฐานการอ้างอิง ศักยภาพ ฯลฯ (ยกเว้นการเสนอ กฎ หรือทฤษฎี แนวคิดใหม่)

ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.2 ความสมบูรณ์และความลึก หมายถึง ความครบถ้วนของเนื้อหาหรือเรื่องราวที่ถือเป็นขอบข่ายของชื่อตำราแต่ละบทแต่ละตอน ประกอบด้วยรายละเอียดซึ่งเป็นหลักวิชาการของศาสตร์ ในสาขาวิชานั้น ๆ มีคำอธิบายและตัวอย่าง เพื่อขยายหลักวิชาอย่างละเอียดถี่ถ้วน ควรมีส่วนประกอบที่สำคัญของตำรา เช่น คำนำ สารบัญ ตาราง บัญชีภาพหรือแผนภูมิประกอบ ฯลฯ ซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่การอ่าน การค้นหาในโอกาสต่อไป

- รูปภาพไม่ได้บอกที่มาของรูป

ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.3 การจัดเรียงลำดับเนื้อหา หมายถึง ลำดับขั้นตอนในการเสนอเรื่องราวที่จะสอน เพื่อความเข้าใจง่ายของผู้เรียน หรือ ผู้อ่าน

เรียบเรียงเนื้อหาตามลำดับ เนื้อหา ทฤษฎี ในจิตวิทยาทั่วไป

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.4 รูปแบบในการเขียน หมายถึง ในแต่ละเรื่องที่เขียนระบุความคิดรวบยอดของเรื่องชัดเจนและมีการอธิบายขยายความคิดรวบยอดนั้น ๆ ในลักษณะสามารถสื่อความหมายได้ดีพอสมควร อาจมีภาพ แผนภูมิ ตาราง ฯลฯ ประกอบเพื่อความเข้าใจและให้น่าสนใจ มีความประณีตในการจัดวรรคตอนแต่ละช่องไฟ มีการอ้างอิงแหล่งวิชาการในที่ควรอ้างอิง มีแบบแผนในการเขียนอ้างอิงจัดทำบรรณานุกรมและภาคผนวกไว้อย่างเหมาะสม

- ผักกาดไทย ออสมย เนื้อหา ชัด เจน อ่านเข้าใจง่าย

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☒ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☐ ดี

2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.5 การศึกษาค้นคว้าเพื่อสนับสนุนการเขียนตำรา หมายถึง ปริมาณการศึกษาค้นคว้าตำรา เอกสาร และ/หรือ รายงานการวิจัยที่จะช่วยให้ผู้เรียนมีความรู้ความสามารถ ในรายวิชานั้น หรือให้ผู้อ่านได้มีความรู้และสามารถสืบค้นเพิ่มเติมได้อย่างกว้างขวาง

ผู้ทรงคุณวุฒิ 10 คน รวม

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.6 ความเหมาะสมและความถูกต้องในการใช้ภาษา หมายถึง การใช้ภาษาในการเขียนเป็นแบบแผนของภาษาไทย ใช้ศัพท์บัญญัติ ศัพท์ทางเทคนิค รวมทั้งตัวสะกด การันต์ ถูกต้อง

- 9 ข้อ หมายเหตุ ศัพท์เทคนิค ไม่ได้ถูกตรวจ

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.7 การเสนอแนวคิดของตนเอง หมายถึง การสอดแทรกความคิด ความเห็นเพิ่มเติมในตอนต่าง ๆ ของเรื่อง อาจจะเป็นข้อวิพากษ์วิจารณ์ คำสรุป ข้อเสนอแนะ การประยุกต์เนื้อหาสาระต่าง ๆ รวมทั้งแนวคิดและความรู้ใหม่ที่เกิดจากการวิเคราะห์และสังเคราะห์

มีการแทรกคำ แนะนำ เพื่อให้เห็น สรุปผลได้ง่ายขึ้น

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.8 คุณค่าของตำรา หมายถึง ประโยชน์ ความสำคัญและความเชื่อถือได้ ในการที่นำตำรา ไปใช้ประกอบการสอน หรือใช้เพื่อสื่อการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม และใช้อ้างอิง

สามารถหาไม่ใช้ ผูกจบ การเรียน การสอนได้

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.9 ความเห็นอื่น ๆ

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

3. สรุปผลการประเมินตำรา

(โดยจะต้องสอดคล้องกับเกณฑ์การประเมินในข้อ 2.1-2.8)

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะและส่งผลงานให้อ่านใหม่อีกครั้ง
3. ☐ ต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะก่อนเผยแพร่ผลงานครั้งใหม่
4. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

4. สรุปผลประเมิน โปรดสรุปผลการประเมินผลงานตำรา และเสนอความคิดเห็นด้วย

(โปรดดูตัวอย่าง)

ตำราเรื่อง ปฏิบัติการเคมีทั่วไป ใช้ประกอบการเรียนการสอน ในวิชาเคมีทั่วไป

ในระดับปริญญาตรี เป็นหนังสือประกอบการเรียนวิชา ทฤษฎี มักทรมารู้ใจได้ช่วยขึ้น เป็น ตำรา

ที่มีคุณภาพดีมาก สามารถนำไปใช้ ประกอบการเรียนการสอน การอ้างอิง ได้

.....

.....

.....

ลงชื่อ..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิฯ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์มาลินี ฉินนานนท์)

27 / พ.ค. / 57

หนังสือตอบรับการเป็นผู้ทรงคุณวุฒิเพื่อประเมินตำรา

ตามที่คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
เรียนเชิญข้าพเจ้าเป็นคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิทำหน้าที่ประเมินผลงานทางวิชาการ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง เพื่อการรับรองคุณภาพประเภท งานแต่ง เรียบเรียง
ตำรา หรือหนังสือ ของ ดร.ลักขมี วิทยา เรื่อง ปฏิบัติการเคมีทั่วไป นั้น ข้าพเจ้าได้รับทราบแล้ว และ

- ☒ ยินดีพิจารณาผลงานทางวิชาการ
☐ ไม่สามารถพิจารณาผลงานทางวิชาการได้

ในการนี้ ข้าพเจ้าได้ให้ที่อยู่ซึ่งสามารถติดต่อได้สะดวก (พร้อมหมายเลขโทรศัพท์)

ในโอกาสต่อไป ดังนี้

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มทร.ศรีวิชัย อว. ตรัง

119 ม.3 ต.ไม้ฝาด อ.สิเกา จ. ตรัง 92150

086-2946616

สาขาอื่นที่สามารถพิจารณาได้.....เคมีอาหาร.....หลักการวิเคราะห์อาหาร
จุลเคมี

ปัจจุบันดำรงตำแหน่งทางวิชาการ ☐ อาจารย์ ☒ ผศ. ☐ รศ. ☐ ศ.

คุณวุฒิทางการศึกษา/สาขาวิชา/สถาบันการศึกษา.....ปริญญาโท สาขาจุลเคมี

ม.สงขลานครินทร์ วิทยาเขต ภูเก็ต จ.สงขลา

ลงชื่อ.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อุไรวรรณ วัฒนกุล)

วันที่ 21 / พ.ค. / 57

สำนักงานคณบดี

โทร. 0 ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

โทรสาร ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

แบบประเมินตำรา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

1. ข้อมูลเบื้องต้นของตำรา

ตำรานี้ใช้สำหรับการเรียนการสอนในรายวิชา.....ปฏิสัมพันธ์เคมีทั่วไป
ระดับ.....ปริญญาตรี.....ภาคเรียน.....
คณะ/วิทยาลัย.....คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีจัดการประชุม

2. เกณฑ์สำหรับประเมิน

2.1 ความถูกต้องและความทันสมัยของเนื้อหา หมายถึง เนื้อหาถูกต้องตามหลักวิชาการของศาสตร์ในสาขาวิชานั้น ๆ และความถูกต้องนั้นเป็นที่ยอมรับกันว่าถูกต้องในปัจจุบัน สิ่งที่ควรพิจารณา เช่น ทฤษฎี สูตร กฎการทดลอง ข้อมูล การตีความหมาย หลักฐานการอ้างอิง ศักยภาพ ฯลฯ (ยกเว้นการเสนอ กฎ หรือทฤษฎี แนวคิดใหม่)

ถูกต้อง ครบถ้วนตามหลักวิชาการของสาขา

ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.2 ความสมบูรณ์และความลึก หมายถึง ความครบถ้วนของเนื้อหาหรือเรื่องราวที่ถือเป็นขอบข่ายของชื่อตำราแต่ละบทแต่ละตอน ประกอบด้วยรายละเอียดซึ่งเป็นหลักวิชาการของศาสตร์ ในสาขาวิชานั้น ๆ มีคำอธิบายและตัวอย่าง เพื่อขยายหลักวิชาอย่างละเอียดถี่ถ้วน ควรมีส่วนประกอบที่สำคัญของตำรา เช่น คำนำ สารบัญ ตาราง บัญชีภาพหรือแผนภูมิประกอบ ฯลฯ ซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่การอ่าน การค้นหาในโอกาสต่อไป

มีข้อมูลประกอบครบถ้วน สมบูรณ์ และมีภาพ ตาราง อธิบายชัดเจน

ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.3 การจัดเรียงลำดับเนื้อหา หมายถึง ลำดับขั้นตอนในการเสนอเรื่องราวที่จะสอน เพื่อความเข้าใจง่ายของผู้เรียน หรือ ผู้อ่าน

จัดเรียงได้เหมาะสมตามระดับชั้น และความสามารถของผู้เรียน สามารถเข้าใจง่าย

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.4 รูปแบบในการเขียน หมายถึง ในแต่ละเรื่องที่เขียนระบุความคิดรวบยอดของเรื่องชัดเจนและมีการอธิบายขยายความคิดรวบยอดนั้น ๆ ในลักษณะสามารถสื่อความหมายได้ดีพอสมควร อาจมีภาพ แผนภูมิ ตาราง ฯลฯ ประกอบเพื่อความเข้าใจและให้น่าสนใจ มีความประณีตในการจัดวรรคตอนแต่ละช่องไฟ มีการอ้างอิงแหล่งวิชาการในที่ควรอ้างอิง มีแบบแผนในการเขียนอ้างอิงจัดทำบรรณานุกรมและภาคผนวกไว้อย่างเหมาะสม

มีความสมบูรณ์และมีภาพประกอบเพื่อให้เข้าใจง่าย โดยมีข้อเสนอแนะได้แก่
การเพิ่มเติม แหล่งที่มา รูปภาพ / ตาราง ประกอบบทเรียน ทั้งนี้เพราะได้อ้างอิง
มาจากแหล่งอื่น และตรวจสอบ การใช้อ้างอิงบรรณานุกรมให้สอดคล้อง ตาม หลักการ อ้างอิง

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.5 การศึกษาค้นคว้าเพื่อสนับสนุนการเขียนตำรา หมายถึง ปริมาณการศึกษาค้นคว้าตำรา เอกสาร และ/หรือ รายงานการวิจัยที่จะช่วยให้ผู้เรียนมีความรู้ความสามารถ ในรายวิชานั้น หรือให้ผู้อ่านได้มีความรู้และสามารถสืบค้นเพิ่มเติมได้อย่างกว้างขวาง

ปริมาณ ตำรา / รายงานการวิจัย ควรเพิ่มเติม ตำรา ภาษาอังกฤษ เพื่อเชื่อมโยง
ผู้เรียน ให้สามารถ ค้นคว้า ได้อย่าง กว้างขวาง

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☐ ดีมาก ☒ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.6 ความเหมาะสมและความถูกต้องในการใช้ภาษา หมายถึง การใช้ภาษาในการเขียนเป็นแบบแผนของภาษาไทย ใช้ศัพท์บัญญัติ ศัพท์ทางเทคนิค รวมทั้งตัวสะกด การันต์ ถูกต้อง

มีความถูกต้องและเหมาะสม

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.7 การเสนอแนวคิดของตนเอง หมายถึง การสอดแทรกความคิด ความเห็นเพิ่มเติมในตอนต่าง ๆ ของเรื่อง อาจจะเป็นข้อวิพากษ์วิจารณ์ คำสรุป ข้อเสนอแนะ การประยุกต์เนื้อหาสาระต่าง ๆ รวมทั้งแนวคิดและความรู้ใหม่ที่เกิดจากการวิเคราะห์และสังเคราะห์

หากสามารถ เพิ่มเติม งานวิจัยที่ประยุกต์ใช้บทปฏิบัติการดังกล่าว แทรกในเนื้อหาด้วย
จะทำให้ เกิดความสมบูรณ์ของผู้เรียน ยิ่งขึ้น

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2.8 คุณค่าของตำรา หมายถึง ประโยชน์ ความสำคัญและความเชื่อถือได้ ในการที่นำตำรา ไปใช้ประกอบการสอน หรือใช้เพื่อสื่อการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม และใช้อ้างอิง

มีคุณค่า เหมาะแก่การนำไปใช้ประกอบการเรียนการสอน

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.9 ความเห็นอื่น ๆ

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

3. สรุปผลการประเมินตำรา

(โดยจะต้องสอดคล้องกับเกณฑ์การประเมินในข้อ 2.1-2.8)

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะและส่งผลงานให้อ่านใหม่อีกครั้ง
3. ☐ ต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะก่อนเผยแพร่ผลงานครั้งใหม่
4. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

4. สรุปผลประเมิน โปรดสรุปผลการประเมินผลงานตำรา และเสนอความคิดเห็นด้วย

(โปรดดูตัวอย่าง)

ตำราเรื่อง ปฏิบัติการเคมีทั่วไป ซึ่งมีเนื้อหาเกี่ยวกับ ทฤษฎี และ หลักปฏิบัติการ
เบื้องต้น ทางด้าน เคมีทั่วไป มีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์ดีมาก จึงได้ให้การรวบรวม ตามอัตราค่า
และสรุป เพื่อนำเสนอ ความคิดที่ถูกต้องทางปฏิบัติการ รวมทั้งได้ประมวลความรู้ให้อ่านชัดเจน
ถึงเนื้อหาที่มีคุณภาพ อันจะนำไปใช้ประโยชน์ และก่อให้เกิด การพัฒนาการเรียนการสอน
ในสาขาวิชานี้ได้เป็นอย่างดี

ลงชื่อ..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิฯ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อุไรวรรณ วัฒนกุล)
๒๗ / พ.ค / ๒๕



คู่มือปฏิบัติการโรคและปรสิตตัวน้ำ

Diseases and Parasites of Aquatic Animals Laboratory

Manual

จันทนา ศรีเนียม

สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

วิทยาเขตตรัง

2557

คำนำ

คู่มือปฏิบัติการโรคและปรสิตสัตว์น้ำ เป็นตำราประกอบการเรียนในหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต
เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัย
เทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

ผู้เขียนหวังอย่างยิ่งว่า หนังสือคู่มือปฏิบัติการโรคและปรสิตสัตว์น้ำ คงมีประโยชน์สำหรับการเรียน
การสอนรายวิชาโรคและปรสิตสัตว์น้ำของนักศึกษาและผู้ที่เกี่ยวข้องทั่วไป หากเอกสารเล่มนี้มีข้อบกพร่อง
ประการใด ผู้เขียนยินดีรับคำติชมจากทุกท่านเพื่อเป็นข้อมูลในการพัฒนาปรับปรุงเอกสารเล่มนี้ให้ดียิ่งขึ้น
ต่อไป

ในการเรียบเรียงเอกสารเล่มนี้ ผู้เขียนขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่าน ที่ได้อบรมสั่งสอนและ
ผู้เขียนตำราทุกท่าน ที่ข้าพเจ้านำมาเป็นเอกสารอ้างอิงประกอบการเรียบเรียง

จันทนา ศรีเนียม

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทปฏิบัติการที่ 1 การตรวจสอบปลาเบื้องต้น	1
บทปฏิบัติการที่ 2 การศึกษาโรคที่เกิดจากปรสิตในปลา	7
บทปฏิบัติการที่ 3 การศึกษาโรคที่เกิดจากปรสิตในเลือดปลา	13
บทปฏิบัติการที่ 4 การวัดขนาดของปรสิต	18
บทปฏิบัติการที่ 5 การแยกเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคจากตัวปลา	24
บทปฏิบัติการที่ 6 เทคนิคการย้อมสีแกรมแบคทีเรียในการวินิจฉัยแบคทีเรีย	30
บทปฏิบัติการที่ 7 การตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์น้ำ	35
บทปฏิบัติการที่ 8 การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะ	41
บทปฏิบัติการที่ 9 การแยกเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ	46
บทปฏิบัติการที่ 10 การเตรียมวัคซีนเพื่อป้องกันโรคปลา	50
เอกสารอ้างอิง	60

บทปฏิบัติการที่ 1

การตรวจสอบปลาเบื้องต้น

การวินิจฉัยโรคมีความสำคัญต่อการจัดการสุขภาพสัตว์น้ำ รวมทั้งการป้องกันและควบคุมโรค การตรวจสอบสาเหตุของการเกิดโรคเบื้องต้นเป็นสิ่งสำคัญและควรทำหลังจากปลาตายอย่างเร่งด่วน กรณีที่ไม่สามารถตรวจสอบได้ทันทีควรเก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิต่ำ และควรทำการจดบันทึก รายละเอียดต่างๆของตัวอย่างปลาที่ป่วย ได้แก่ ชนิด ขนาด เพศ อายุแหล่งที่มา รวมทั้งประวัติการเลี้ยงและการจัดการภายในบ่อเลี้ยง เป็น โดยข้อมูลยิ่งละเอียดยิ่งเป็นประโยชน์ต่อการนำมาประกอบการวินิจฉัยโรคในขั้นต่อไป

วัตถุประสงค์

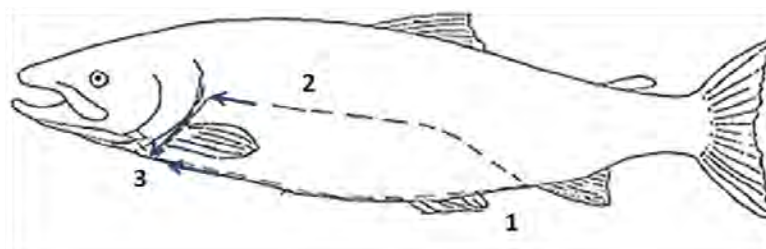
1. เพื่อให้ นักศึกษารู้และเข้าใจวิธีการตรวจสอบสาเหตุของการเกิดโรคเบื้องต้น
2. เพื่อให้ นักศึกษารู้จักสังเกตความแตกต่างของลักษณะภายนอกและภายในของปลาปกติและปลาที่เป็นโรค

อุปกรณ์การทดลอง

1. ชุดเครื่องมือผ่าตัด
2. สไลด์และกระจกปิดสไลด์
3. petri dish
4. น้ำเกลือปลอดเชื้อ (0.85 % NaCl)
5. ตัวอย่างปลา
6. stereomicroscope
7. compound microscope

วิธีการทดลอง

1. ทำให้ปลาหมดความรู้สึกโดยใช้เข็มคว้านส่วนของไขสันหลัง และทำการตรวจสอบลักษณะภายนอก โดยสังเกตลักษณะสีผิวของตัวปลาว่าเปลี่ยนแปลงไปจากปกติอย่างไร, แต่ละครีบทสมบูรณ์หรือกร่อน, ปริมาณเมือกบนผิวหนัง, มีบาดแผลบริเวณลำตัวหรือไม่
2. ตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบควรนำมาจากบริเวณแผลต่างๆ โดยใช้กระจกปิดสไลด์ชุบน้ำเกลือและเมือก มาปิดลงบนสไลด์ที่มี 0.85 % NaCl หยดอยู่ เพื่อสังเกตดูโปรโตซัวและปรสิตภายนอกโดยนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์
3. เปิดส่วนของกระพุ้งแก้ม (operculum) สังเกตดูว่าซี่เหงือกมีลักษณะอย่างไรเช่น สีแดงเป็นปกติ ค้ำค้ำหรือซีด, ซี่เหงือกเรียวยาวเป็นปกติหรือเชื่อมติดกัน, มีเมือกมากกว่าปกติหรือไม่
4. ตัดส่วนแขนงซี่เหงือก (gill arch) วางบนจานแก้ว ที่มี 0.85 % NaCl ส่องดูภายใต้กล้อง stereomicroscope แล้วใช้กรรไกรตัดบริเวณซี่เหงือกเล็กน้อย นำไปวางบนสไลด์ที่มี 0.85 % NaCl หยดอยู่ ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ส่องดูภายใต้กล้อง compound microscope
5. นำเลือดของปลาตัวอย่างที่ยังมีชีวิตหรือเพิ่งตายใหม่ ๆ มาหยดบนสไลด์และปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ส่องดูภายใต้กล้อง compound microscope เพื่อดูโปรโตซัวที่เป็นปรสิตในเลือด
6. สังเกตรูก้น (anus) ว่ามีลักษณะผิดปกติหรือไม่ เช่น มีอาการบวม, รูก้นมีสีแดงเข้มหรือปกติ เมื่อรีดบริเวณท้องมีน้ำเลือดหรือน้ำเหลืองออกมาทางรูก้นหรือไม่
7. ทำการเปิดช่องท้อง (body cavity) โดยใช้กรรไกรเริ่มตัดตั้งแต่ส่วนของรูก้น ตัดขึ้นไปตามเส้นกลางตัวจนถึงบริเวณใต้คาง (ตำแหน่งที่ 1) และตัดตามตำแหน่งที่ 2 และ 3 ดังรูป



8. หลังจากเปิดช่องท้องแล้วให้สังเกตตำแหน่งอวัยวะภายในต่างๆ สังเกตสีและความชุ่มชื้นของของเหลวภายในช่องท้อง (intraperitoneal fluid) และนำไปหยดบนสไลด์เพื่อส่องดูปรสิตต่างๆ ที่อาจมีอยู่
9. สังเกตเชื่อบุช่องท้องว่ามีลักษณะอย่างไร เช่น ปกติในปลากินเนื้อต้องมีลักษณะขาวใส ส่วนปลากินพืชจะมีสีดำ ผนังช่องท้องเรียบหรือมีซีสต์ (cyst) ของปรสิตเกาะอยู่ และมีอาการตกเลือดหรือไม่
10. ใช้กรรไกรและใบมีดทำการแยกส่วนของตับออกจากกระเพาะอาหารและเยื่ออื่นต่างๆ สังเกตขนาดของตับเปรียบเทียบกับขนาดของลำตัว หาค่าอัตราส่วนของน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว (hepatosomatic index) สังเกตลักษณะสีตับแดงเข้มหรือซีดผิดปกติ มีอาการตกเลือด หรือเป็นแผลหนองหรือไม่และ มีซีสต์ (cyst) ของปรสิตเกาะอยู่บ้างหรือไม่

$$\text{hepatosomatic index} = \frac{\text{liver wt.}}{\text{body wt.}} \times 100$$

11. ทำการแยกส่วนทางเดินอาหารตั้งแต่หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร ลำไส้จนถึงรูทวาร สังเกตโดยละเอียดว่ามีลักษณะอย่างไร ใช้กรรไกรผ่าส่วนกระเพาะอาหารและลำไส้ดูลักษณะของการตกเลือด อาการบวม (edema) หรือการอักเสบ (inflammation) ใช้กระจกปิดสไลด์ดูบริเวณผนังด้านในของกระเพาะอาหารและลำไส้เพื่อดูปรสิตบางชนิดที่อาจมีอยู่
12. ม้าม (spleen) ตรวจสอบขนาดและสี สังเกตดูซีสต์หรือตุ่มต่างๆ
13. ไต (kidney) ในปลาส่วนใหญ่จะอยู่ใต้กระดูกไขสันหลัง ทำการตรวจสอบโดยการเลาะเยื่อหุ้มออก สังเกตสีว่าปกติหรือซีดอย่างไร มีอาการบวมหรือไม่ ตัดชิ้นส่วนของไตมาเล็กน้อยเพื่อดูว่ามีปรสิตหรือกลุ่มของแบคทีเรียหรือไม่

ใบรายงานบทปฏิบัติการที่ 1

การตรวจสอบปลาเบื้องต้น

ชื่อ.....รหัสประจำตัว.....

สาขา.....ปีที่.....

แบบฟอร์มการตรวจสอบตัวอย่างปลา

Case No.....

วันที่...../...../.....

ผู้วินิจฉัย.....

ชนิดปลา.....น้ำหนัก/ความยาว.....

ผิวหนังตัว : () ปกติ () สีผิดปกติ (ซีดหรือดำคล้ำ) () มีเมือกมาก

แผลบนผิวหนัง : () ปกติ () แผลหลุม () แผลตกลิ้น () เนื้อตาย

() ตุ่มหนอง

() บริเวณที่พบ :

() Microscopic wetmount :

.....
.....

ครีบก : () ปกติ () Gross pathology : กร่อน, แหว่ง.....

ตกลิ้น.....

() Microscopic wetmount :

.....
.....

เหงือก : () ปกติ () ซีด () ตกเลือด () ซึ่งเหงือกเชื่อมติดกัน

() Microscopic wetmount :

.....

.....

ตับ : () ปกติ () ซีด () ตกเลือด () บวม

() Microscopic wetmount :

.....

.....

ม้าม : () ปกติ () ซีด () ตกเลือด () บวม

() Microscopic wetmount :

.....

.....

ไต : () ปกติ () ซีด () ตกเลือด () บวม

() Microscopic wetmount :

.....

.....

ลักษณะอื่นๆ

ตา :

ช่องท้อง :

เยื่อไขมัน :

ถุงน้ำดี :

กระเพาะอาหาร :

ลำไส้ :

กล้ำเนื้อ :

สมอง :

อวัยวะสืบพันธุ์ :

อื่นๆ :

.....

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

บทปฏิบัติการที่ 2

การศึกษาโรคที่เกิดจากปรสิตในปลา

สัตว์น้ำส่วนใหญ่มักเป็นเจ้าบ้าน (host) ให้แก่ปรสิตหลากหลายชนิด ซึ่งโรคที่เกิดจากปรสิตในสัตว์น้ำเป็นโรคที่สามารถพบได้บ่อย โดยสัตว์น้ำที่อยู่ในบ่อเลี้ยงจะมีการระบาดของโรคได้มากกว่าสัตว์น้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติ แม้ว่าโรคที่เกิดจากปรสิตบางครั้งจะไม่ใช่ปัญหารุนแรงมากนัก และไม่ก่อให้เกิดการตายในสัตว์น้ำโดยตรง แต่อาจทำให้เกิดการติดเชื้ออื่นๆ (secondary infection) เช่น แบคทีเรีย หรือเชื้อราได้ง่ายขึ้น

วัตถุประสงค์

3. เพื่อให้นักศึกษามีทักษะในการตรวจสอบโรคที่เกิดจากปรสิตในปลา
4. เพื่อให้นักศึกษารู้จักชนิดของปรสิตที่พบในสัตว์น้ำ

อุปกรณ์การทดลอง

1. ตัวอย่างปลาที่มีชีวิต
2. ชุดเครื่องมือผ่าตัดและถาดผ่าตัด
3. สไลด์และกระจกปิดสไลด์
4. น้ำเกลือปลอดเชื้อ (0.85 % NaCl)
5. stereomicroscope
6. compound microscope
7. Oil immersion
8. กระดาษเช็ดเลนส์

วิธีการทดลอง

การวินิจฉัยโรคที่เกิดจากปรสิตภายนอก

14. วางตัวอย่างปลาในถาด ใช้กระจกปิดสไลด์ (cover slip) ให้ทำมุม 45 องศา กับตัวปลาแล้ว ขูดเมือกเบาๆ บริเวณผิวหนังตัวปลา (โดยไม่ขย้อนเกล็ด) และบริเวณครีบ นำ cover slip ไปวางบน สไลด์ที่มี 0.85 % NaCl หยดอยู่ ควรให้น้ำกระจายตัวดีทั่วทั้งแผ่น cover slip พยายามอย่าให้มี ฟองอากาศ นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อสังเกตลักษณะของปรสิต
15. ใช้กรรไกรผ่าตัดตัดส่วนของครีบบางลงบนสไลด์ที่มี 0.85 % NaCl นำไปส่องดูด้วยกล้อง จุลทรรศน์ เพื่อสังเกตลักษณะของปรสิต
16. ใช้กรรไกรผ่าตัดตัดส่วนของซี่เหงือก (gill filament) วางลงบนสไลด์ที่มี 0.85 % NaCl นำไป ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อสังเกตลักษณะของปรสิต
17. ใช้กรรไกรผ่าตัดตัดเปิดตาปลา (ได้น้ำ) เพื่อตรวจหาปรสิตที่อาศัยอยู่ในเลนส์ตา ของเหลวใน ลูกตา และกระจกตาปลา (retina)
18. เมื่อพบปรสิตในอวัยวะต่างๆ ให้ทำการแยกปรสิต และเตรียมสไลด์ชั่วคราวในน้ำเกลือ พร้อม วาดภาพลักษณะของปรสิตเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดที่พบในตัวอย่างสัตว์น้ำต่อไป
19. บันทึกชนิด ปริมาณ และตำแหน่งของปรสิตที่พบ

การวินิจฉัยโรคที่เกิดจากปรสิตภายใน

1. เมื่อตรวจสอบปรสิตภายนอกเสร็จแล้ว จึงทำการเปิดช่องท้องเพื่อตรวจหาปรสิตภายใน โดยทำ การเปิดช่องท้องตามวิธีการในบทปฏิบัติการที่ 1
2. แยกส่วนของทางเดินอาหารและตัดออกเป็นส่วนๆ ผ่าเปิดตามยาวกระทำน้ำ ตรวจหาปรสิตที่ อาจปะปนอยู่ในเศษอาหาร ส่องดูภายใต้กล้อง stereomicroscope
3. แยกส่วนถุงน้ำดี (gall bladder) ทำการเจาะถุงน้ำดีให้แตกบนสไลด์ ตรวจหาปรสิตภายใต้กล้อง compound microscope

4. แยกชิ้นส่วนของไต (kidney) โดยตัดเป็นชิ้นเล็กๆบางๆ วางบนสไลด์ทำบด และส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์
5. เมื่อพบปรสิตในอวัยวะต่างๆ ให้ทำการแยกปรสิต และเตรียมสไลด์ชั่วคราวในน้ำเกลือ พร้อมวาดภาพลักษณะของปรสิตเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดที่พบในตัวอย่างสัตว์น้ำต่อไป
6. บันทึกชนิด ปริมาณ และตำแหน่งของปรสิตที่พบ

ชนิดของปรสิตที่พบทั่วไปในสัตว์น้ำ

ปรสิตภายนอก (Ectoparasites)

กลุ่ม Protozoa เช่น *Trichodina*, *Ichthyophthirius*, *Epistylis* และ *Costia* เป็นต้น

กลุ่ม Monogenean เช่น *Gyrodactylus* และ *Dactylogyrus* เป็นต้น

กลุ่ม Crustacea เช่น *Lernaea*, *Argulus*, *Piscicola* และ *Glochidia* เป็นต้น

ปรสิตภายใน (Endoparasites)

กลุ่ม Protozoa เช่น *Trypanoplasma*, *Hexamita*, *Glugea* และ *Myxosoma* เป็นต้น

กลุ่ม Digenetic trematodes เช่น *Diplostomum* และ *Cryptocotyle* เป็นต้น

กลุ่ม Cestodes เช่น *Ligula* และ *Diphyllbothrium* เป็นต้น

กลุ่ม Nematodes เช่น *Anisakis* เป็นต้น

กลุ่ม Acanthocephala เช่น *Pomphorhynchus* เป็นต้น

ใบรายงานบทปฏิบัติการที่ 2

การศึกษาโรคที่เกิดจากปรสิตในปลา

ชื่อ.....รหัสประจำตัว.....

สาขา.....ปีที่.....

Case No.....

วันที่...../...../.....

ผู้วินิจฉัย.....

ชนิดปลา.....น้ำหนัก/ความยาว.....

แหล่งที่มาของตัวอย่าง.....

ตารางบันทึกผล

ภาพวาดลักษณะปรสิต	ชนิด..... ปริมาณ..... ตำแหน่งที่พบ.....
ภาพวาดลักษณะปรสิต	ชนิด..... ปริมาณ.....

	ตำแหน่งที่พบ.....
ภาพวาดลักษณะปรสิต	ชนิด..... ปริมาณ..... ตำแหน่งที่พบ.....
ภาพวาดลักษณะปรสิต	ชนิด..... ปริมาณ..... ตำแหน่งที่พบ.....
ภาพวาดลักษณะปรสิต	ชนิด..... ปริมาณ..... ตำแหน่งที่พบ.....

หมายเหตุ การรายงานปริมาณปรสิตที่พบ ใช้เครื่องหมายแทนดังนี้

+ = น้อย

++ = ปานกลาง

+++ = มาก

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

บทปฏิบัติการที่ 3

การศึกษาโรคที่เกิดจากปรสิตในเลือดปลา

สัตว์น้ำส่วนใหญ่มักเป็นเจ้าบ้าน (host) ให้แก่ปรสิตหลากหลายชนิด ซึ่งโรคที่เกิดจากปรสิตในสัตว์น้ำเป็นโรคที่สามารถพบได้บ่อย สัตว์น้ำเป็นที่ยึดเกาะอย่างดีในให้แก่ปรสิต ทำให้สามารถพบปรสิตเกาะอยู่โดยทั่วไปในอวัยวะต่างๆ ทั้งภายนอกและภายในร่างกาย นอกจากนี้ยังพบปรสิตบางชนิดที่อาศัยอยู่ในระบบหมุนเวียนเลือดของสัตว์น้ำ โดยปรสิตกลุ่ม trypanosome เป็นกลุ่มที่พบบ่อยและมีความสำคัญในการก่อให้เกิดโรคเหงาหลับในปลา (sleeping sickness in fish) มีรายงานอยู่ 2 สกุล คือ *Trypanosoma* และ *Trypanoplasma* ซึ่งปรสิตเซลล์เดียวชนิดนี้มีเ้าช่วยในการเคลื่อนที่ ปรสิตชนิดนี้อาศัยสารอาหาร และออกซิเจนในกระแสเลือดจาก host เป็นแหล่งพลังงานสำหรับกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ และขับสารฮีโมไลซิน (haemolysin) ที่เป็นของเสียทำให้เม็ดเลือดแดงของ host แตก ปริมาณเม็ดเลือดแดงมีจำนวนน้อยลง ทำให้เกิดอาการโลหิตจาง ระบบหมุนเวียนโลหิตล้มเหลว และปลาตายในที่สุด การศึกษาหาปรสิตในเลือดจึงเป็นขั้นสำคัญอย่างหนึ่งในการตรวจวินิจฉัยโรคในสัตว์น้ำ

สกุล *Trypanosoma*

Trypanosoma เป็นปรสิตเซลล์เดียว ดำรงชีวิตแบบ dixenous คืออาศัยเจ้าบ้าน 2 ชนิด ในวงจรชีวิต โดยมีระยะหนึ่งอาศัยอยู่ในกระแสเลือด และเนื้อเยื่อของสัตว์มีกระดูกสันหลัง และมีอีกระยะหนึ่งอาศัยอยู่ในสัตว์ตัวไม่มีกระดูกสันหลัง ประกอบด้วย นิวเคลียส 1 อัน เ้า (flagellum) 1 เส้น และมีไคนีโทพลาส (kinetoplast) บริเวณฐานของเ้า จากจุดนี้มี undulating membrane (แผ่นเนื้อเยื่อบาง) คล้ายครีbsd้านข้างเซลล์ และมีเ้าทอดตามขอบนอกของ undulating membrane ไปตามความยาวเซลล์ ปลายของเ้ายื่นออกไปด้านหน้า

สกุล *Trypanoplasma*

Trypanoplasma มีรูปร่างแตกต่างจาก *Trypanosoma* คือ รูปร่างโค้งมนมากกว่า มีเ้า 2 เส้น เส้นแรกอยู่ที่ flagellar pocket ยื่นออกไปที่ปลายด้านหน้าของเซลล์ เรียกว่า free flagellum เ้าอีกเส้นเรียกว่า recurrent flagellum ยึดติดกับลำตัวตามความยาว และยื่นเป็นอิสระไปทางด้านท้ายเซลล์ มี undulating membrane ม้วนพับไปมาเป็นคลื่น ไคนีโทพลาสมีขนาดใหญ่ นิวเคลียสกลมอยู่ตรงข้ามกับไคนีโทพลาส

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้นักศึกษามีทักษะในการตรวจสอบปรสิตในเลือดปลา
2. เพื่อให้นักศึกษารู้จักชนิดของปรสิตที่พบในเลือดปลา

อุปกรณ์การทดลอง

1. ตัวอย่างปลาที่มีชีวิต
2. เข็มฉีดยา (syringe) ขนาด 3 มิลลิลิตร
3. สไลด์และกระจกปิดสไลด์
4. 1% EDTA
5. eppendorf ขนาด 1 มิลลิลิตร
6. compound microscope
7. Oil immersion
8. กระจกย่นเช็ดเลนส์
9. micropipette
10. absolute methanol
11. ชุดย้อมสีตำเร็จรูป (Dip Quick)
12. Hemocytometer

วิธีการทดลอง

1. ทำการเก็บตัวอย่างเลือดปลา โดยใช้เข็มฉีดยา ขนาด 3 มิลลิลิตร ที่เคลือบด้วย 1% EDTA เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด ดูดเลือดจากบริเวณคอดหางของปลาประมาณ 0.5-1 มิลลิลิตร นำเลือดที่ได้มาเก็บไว้ใน eppendorf ขนาด 1 มิลลิลิตร

2. ใช้ micropipette ดูดเลือดที่ได้ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร นำมาหยดบนสไลด์ ปิดด้วย cover slip และส่องตรวจภายใต้ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง เพื่อตรวจหาปรสิต หากมีปรสิตจำนวนไม่มากจะทำการนับจำนวนปรสิตจากขั้นตอนนี้โดยตรง แต่หากพบปรสิตเป็นจำนวนมาก ต้องทำการเจือจางตัวอย่างเลือดปลาด้วยสารละลาย 1% EDTA และนับจำนวนโดยใช้ Hemocytometer
3. ใช้ micropipette ดูดเลือดจาก eppendorf ปริมาตร 5 ไมโครลิตร หยดลงบนสไลด์และเกลี่ยให้บางด้วย cover slip ทิ้งตัวอย่างเลือดบนสไลด์ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และทำให้เซลล์คงสภาพโดยนำฟิล์มเลือดไปแช่ใน absolute methanol นาน 3 นาที
4. จากนั้นนำไปย้อมสีด้วยชุดย้อมสี Dip Quick
5. ศึกษาลักษณะต่าง ๆ ของปรสิต
6. เมื่อพบปรสิตในอวัยวะต่างๆ ให้ทำการแยกปรสิต และเตรียมสไลด์ชั่วคราวในน้ำเกลือ พร้อมวาดภาพลักษณะของปรสิตเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดที่พบในตัวอย่างสัตว์น้ำต่อไป
7. บันทึกชนิด ปริมาณ และวาดภาพปรสิตที่พบ

ใบรายงานบทปฏิบัติการที่ 3

การศึกษาโรคที่เกิดจากปรสิตในเลือดปลา

ชื่อ.....รหัสประจำตัว.....

สาขา.....ปีที่.....

Case No.....

วันที่...../...../.....

ผู้วินิจฉัย.....

ชนิดปลา.....น้ำหนัก/ความยาว.....

แหล่งที่มาของตัวอย่าง.....

ตารางบันทึกผล

ภาพวาดลักษณะปรสิต	ชนิด..... ปริมาณ.....
ภาพวาดลักษณะปรสิต	ชนิด..... ปริมาณ.....

หมายเหตุ การรายงานปริมาณการผลิตที่พบ ใช้เครื่องหมายแทนดังนี้

$+$ = น้อย

$++$ = ปานกลาง

$+++$ = มาก

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

บทปฏิบัติการที่ 4

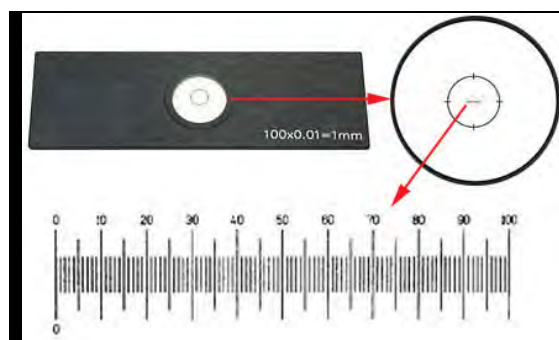
การวัดขนาดของปริสิต

การจำแนกชนิดของปริสิต ขนาด (size) และสัดส่วนของอวัยวะต่าง ๆ เป็นสิ่งสำคัญในการจำแนกชนิด ผู้ทำการศึกษาปริสิตต้องทำการวัดขนาดที่แน่นอน โดยอุปกรณ์ที่ใช้วัดขนาดของตัวอย่างที่อยู่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้แก่ ไมโครมิเตอร์ (micrometer) ประกอบด้วย Stage micrometer และ Ocular micrometer ที่กำลังขยายต่างๆ

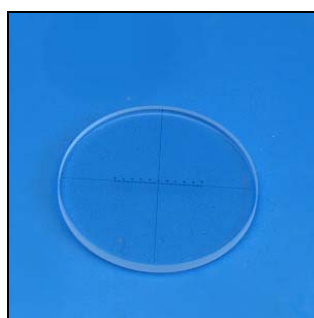
Stage micrometer เป็นแผ่นกระจกขนาดเท่ากับสไลด์กระจกธรรมดาตรงกลางแผ่นกระจกมีเส้นแบ่งออกเป็น 100 ช่อง แต่ละช่องห่างกัน 0.01 มิลลิเมตร โดยขนาดของแต่ละช่องนั้นจะระบุไว้บนแผ่นกระจก ในการวัดขนาดปริสิตจะนำ Stage micrometer เป็นมาตรฐานในการนำไปเปรียบเทียบกับขนาดของช่องบน Ocular micrometer

Ocular micrometer เป็นแผ่นกระจกรูปทรงกลมมีขนาดเล็ก โดยนำไปใส่ในเลนส์ใกล้ตา ตรงกลางแผ่นมีขีดเล็กๆ แบ่งออกเป็น 100 ช่อง แต่ละช่องมีระยะห่างเท่าๆกัน ในแต่ละกำลังขยาย (Objective lens :4X, 10x, 40X, 100X) แต่ละช่อง ocular micrometer จะมีขนาดแตกต่างกัน ดังนั้น โดยก่อนใช้ต้องนำไปเปรียบเทียบกับระยะมาตรฐานบน Stage micrometer ก่อน โดยมีวิธีการ ดังนี้

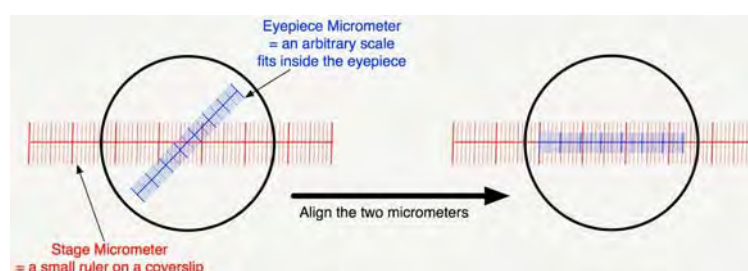
1. นำ ocular len ออกจากกล้องจุลทรรศน์ ใส่ Ocular micrometer ในเลนส์ใกล้ตา (Oculars หรือ eye pieces)
2. วาง Stage micrometer บนแท่น
3. ปรับกล้องจุลทรรศน์ให้เห็นสเกลบน Stage micrometer และ Ocular micrometer ชัดเจน แล้วเลื่อนสเกลที่ปรากฏโดยให้เลข 0 ของ Stage micrometer และ Ocular micrometer อยู่ตำแหน่งเดียวกัน
4. นับจำนวนช่องของ Ocular micrometer ที่ตรงพอดีกับสเกลบน Stage micrometer ซึ่งทราบค่าและทำการคำนวณ



รูปที่ 1 ตัวอย่างของ Stage micrometer



รูปที่ 2 ตัวอย่างของ Ocular micrometer



รูปที่ 3 การเปรียบเทียบกับระยะมาตรฐานของ ocular micrometer กับ Stage micrometer

ตัวอย่างการคำนวณขนาดปริมาตร

ที่กำลังขยาย 4X

40 ช่อง ocular ตรงกับ 100 ช่อง stage = 1 mm.

ดังนั้น 1 ช่องของ ocular = 0.025 mm.

= 25 μ m

ที่กำลังขยาย 100X

10 ช่อง ocular ตรงกับ 1 ช่อง stage = 0.01 mm.

ดังนั้น 1 ช่องของ ocular = 0.001 mm.

= 1 μ m

วัตถุประสงค์

เพื่อให้นักศึกษาฝึกทักษะในการวัดขนาดของปรสิตเพื่อเป็นประโยชน์แก่การจำแนกชนิดของปรสิตที่ก่อโรคในสัตว์น้ำต่อไป

อุปกรณ์การทดลอง

1. ตัวอย่างปรสิต
2. compound microscope
3. สไลด์และกระจกปิดสไลด์
4. Ocular micrometer
5. Stage micrometer
6. หลอดหยด
7. น้ำกลั่น

วิธีการทดลอง

1. ทำการเปรียบเทียบ ocular micrometer กับระยะมาตรฐานบน Stage micrometer ก่อนทำการวัดขนาดปรสิต
2. นำตัวอย่างปรสิตจากบทปฏิบัติการที่ 2 และ 3 มาทำการวัดขนาด
3. บันทึกและวาดภาพลักษณะของตัวอย่างปรสิต

ใบรายงานบทปฏิบัติการที่ 4

การวัดขนาดของปริสิต

ชื่อ.....รหัสประจำตัว.....

สาขา.....ปีที่.....

Case No.....

วันที่...../...../.....

ผู้วินิจฉัย.....

ชนิดปลา.....น้ำหนัก/ความยาว.....

แหล่งที่มาของตัวอย่าง.....

ตารางบันทึกผลการทดลอง

ภาพวาดลักษณะปริสิต	ชนิด..... ขนาด..... ตำแหน่งที่พบ.....
ภาพวาดลักษณะปริสิต	ชนิด..... ขนาด.....

	ตำแหน่งที่พบ.....
ภาพวาดลักษณะปรสิต	ชนิด..... ขนาด..... ตำแหน่งที่พบ.....
ภาพวาดลักษณะปรสิต	ชนิด..... ขนาด..... ตำแหน่งที่พบ.....

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ข้อเสนอแนะ

คำถาม

1.สมมติว่าทำการศึกษาขนาดปรสิต พบว่าเมื่อใช้ objective lens ที่กำลังขยาย 40x จี๊ดที่ 10 ของ stage micrometer วางซ้อนทับกับเส้นที่ 45 ของ ocular micrometer อยากทราบว่าปรสิตที่ทำการศึกษามีขนาดเท่าไร

บทปฏิบัติการที่ 5

การแยกเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคจากตัวปลา

ปลาที่ป่วยและตายด้วยโรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย (bacterial infection) จำเป็นต้องทำการแยกเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุหลักของโรคปลาให้ได้ เพื่อง่ายต่อการป้องกันและรักษาในขั้นต่อไป การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อแบคทีเรีย โดยทั่วไปต้องใช้เทคนิคการแยกเชื้อ (isolation) เพื่อให้ได้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ (pure culture) และการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียโดยอาศัยลักษณะของโคโลนี และคุณสมบัติทางชีวเคมี โดยโรคที่มีสาเหตุมาจากแบคทีเรียนั้นก่อให้เกิดความสูญเสียเป็นอย่างมากในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งโรคมักมีความรุนแรงและก่อให้เกิดอัตราการตายสูงในสัตว์น้ำที่ติดเชื้อแบคทีเรีย สาเหตุของโรคส่วนใหญ่มักเป็นเชื้อที่ดำรงชีวิตอยู่ในน้ำ พบว่าแบคทีเรียที่มีอยู่ทั่วไปในแหล่งน้ำ (normal flora) อาจเป็นเชื้อก่อโรค (opportunistic pathogen) ที่เข้าสู่ตัวปลาได้เมื่อปลาเกิดความเครียด หรือติดเชื้อชนิดอื่นอยู่ก่อนแล้ว เช่น ปรสิตร และเชื้อรา เป็นต้น

วัตถุประสงค์

เพื่อให้นักศึกษาได้ฝึกปฏิบัติการวินิจฉัยโรคที่เกิดจากแบคทีเรียในปลา

อุปกรณ์การทดลอง

1. ตัวอย่างปลาที่มีชีวิต
2. ชุดเครื่องมือผ่าตัด
3. สไลด์และกระจกปิดสไลด์
4. สารละลายไอโอดีน 500 ppm หรือ 70% แอลกอฮอล์
5. 95% แอลกอฮอล์
6. compound microscope
7. Oil immersion
8. กระจกเช็ดเลนส์

9. loop

10. ตะเกียงแอลกอฮอล์

11. ชุดย้อมแกรม (Gram Stain)

12. สำลี

13. อาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น Nutrient broth ,TCBs agar

14. petri dish

วิธีการทดลอง

1. สังเกตลักษณะอาการภายนอกของตัวอย่างปลา เช่น แผลลักษณะต่าง ๆ อาการตกเลือด ลักษณะการจับเมือก รูปร่างบวมแดง และตาโปนหรือขุ่นเป็นต้น จดบันทึกลักษณะอาการต่างๆ
2. แยกเชื้อแบคทีเรียจากส่วนของบาดแผลภายนอก ดังนี้
 - 2.1 ทำความสะอาดบริเวณบาดแผล โดยใช้สำลีจุ่มสารละลายไอโอดีน 500 ppm หรือ 70% แอลกอฮอล์เพื่อขจัดแบคทีเรียที่ไม่ใช่สาเหตุของโรคออกไป
 - 2.2 ใช้มีดผ่าตัดจุ่ม 95% แอลกอฮอล์ ลนผ่านเปลวไฟเพื่อฆ่าเชื้ออุปกรณ์ ทิ้งให้เย็นแล้วกรีดลงบริเวณบาดแผลให้ลึกลงจากผิวหนังเล็กน้อย
 - 2.3 ใช้ loop ที่เผาไฟแล้วแตะลงบริเวณที่ถูกกรีด นำมาป้าย (streak) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้
 - 2.4 ใช้ loop ที่เผาไฟแล้วแตะลงบริเวณที่ถูกกรีดแผลเดิมในข้อ 2.2 นำมา smear ลงบนสไลด์ เพื่อย้อมแกรมดูลักษณะของเซลล์แบคทีเรีย
3. ทำการเปิดช่องท้องเพื่อแยกเชื้อแบคทีเรียจากอวัยวะภายใน โดยเช็ดเมือกบริเวณตัวปลาออกให้หมด แล้วใช้สำลีจุ่มสารละลายไอโอดีน 500 ppm หรือ 70% แอลกอฮอล์เช็ดบริเวณท้องให้สะอาด และทำการเปิดช่องท้องเหมือนบทปฏิบัติการที่ 1
4. สังเกตความผิดปกติลักษณะของอวัยวะภายใน และทำการจดบันทึก

4.1 ใช้ใบมีดที่ผ่านการฆ่าเชื้อกรีดลงบริเวณอวัยวะที่ต้องการ แล้วใช้ loop เชี่ยตรงรอยที่กรีด นำมาป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต้องการ และนำมา smear ลงบนสไลด์ เพื่อย้อมแกรมดู ลักษณะของเซลล์แบคทีเรีย

5. กรณีการแยกเชื้อจากบริเวณใด สามารถทำได้ 2 วิธี คือ

5.1 การเปิดช่องท้อง

5.1.1. โดยทำการเปิดช่องท้องเหมือนบทปฏิบัติการที่ 1 ระวังอย่าให้ลำไส้ทะลุเพราะทำให้เกิดการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นๆได้ง่ายขึ้น

5.1.2. ใช้กรรไกรขนาดเล็กที่ผ่านการฆ่าเชื้อเลาะเอาเยื่อหุ้มไตออก และตัดส่วนของไต เล็กน้อย

5.1.3. ใช้ loop ที่ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มลงบริเวณที่โดนตัดนำมาป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต้องการ และนำมา smear ลงบนสไลด์ เพื่อย้อมแกรมดูลักษณะของเซลล์แบคทีเรีย

5.2 การตัดทางด้านหลัง

5.2.1. เช็ดเมื่อกบริเวณตัวปลาออก แล้วใช้สำลีจุ่มสารละลายไอโอดีน 500 ppm หรือ 70% แอลกอฮอล์เช็ดบริเวณด้านหลัง และด้านข้างทั้งสองข้างของลำตัวให้สะอาด

5.2.2. ใช้มีดผ่าตัดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว กรีดลงมาทางด้านหลังโดยตัดผ่านกระดูกสันหลัง ให้ถึงบริเวณไต ระวังอย่าตัดให้ถึงส่วนของลำไส้

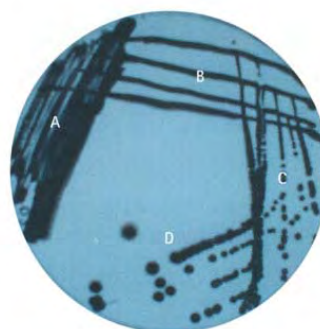
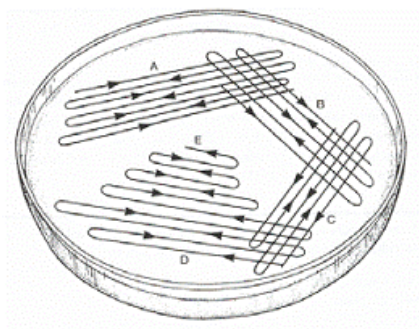
5.2.3. ใช้ loop ที่ฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยจากส่วนของไต นำมาป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต้องการ และนำมา smear ลงบนสไลด์ เพื่อย้อมแกรมดูลักษณะของเซลล์แบคทีเรีย

6. ทำการแยกเชื้อเพื่อให้ได้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ (pure culture) ดังนี้

6.1 หลังจากเชี่ยเชื้อแบคทีเรียจากอวัยวะต่างๆของปลาลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ให้บ่ม (incubate) ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง หลังจากนั้นสังเกตดู ลักษณะของโคโลนีเดี่ยว

6.2 เลือกโคโลนีเดี่ยว และนำมา smear แล้วย้อมแกรมส่องดูความบริสุทธิ์ของเชื้อ หากเชื้อยังไม่บริสุทธิ์ โดยเห็นเซลล์หลายขนาดและย้อมติดสีที่แตกต่างกัน ให้ทำการ subculture ต่อไปบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำซ้ำจนกระทั่งได้เชื้อบริสุทธิ์

6.3 เมื่อได้เชื้อแบคทีเรียที่บริสุทธิ์แล้วให้เลือกโคโลนีเดี่ยวเขี่ยลง slant เพื่อเก็บไว้ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีในการจำแนกชนิดของแบคทีเรียต่อไป



รูปภาพแสดงวิธีการ restreak เพื่อให้ได้เชื้อแบคทีเรียที่บริสุทธิ์

ใบรายงานบทปฏิบัติการที่ 5

การแยกเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคจากตัวปลา

ชื่อ.....รหัสประจำตัว.....

สาขา.....ปีที่.....

Case No.....

วันที่...../...../.....

ผู้วินิจฉัย.....

ชนิดปลา.....น้ำหนัก/ความยาว.....

แหล่งที่มาของตัวอย่าง.....

ตารางบันทึกผลการทดลอง

เนื้อเยื่อ/อวัยวะ	ลักษณะอาการ	การเจริญเติบโต/ลักษณะโคโลนี	Gram Stain/ติดสี
ผิวหนัง			
กรีบ			
เหงือก			
ตับ			
ม้าม			
ไต			
อื่นๆ			

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

คำถาม

นักศึกษาคิดว่ามีสาเหตุใดบ้างที่ทำให้เกิดความข้อผิดพลาดในการแยกเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุหลักในการก่อโรคในสัตว์น้ำได้ไม่ถูกต้อง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

บทปฏิบัติการที่ 6

เทคนิคการย้อมสีแกรมแบคทีเรียในการวินิจฉัยแบคทีเรีย

การย้อมสีแกรม (Gram stain) เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการวินิจฉัยแบคทีเรีย การย้อมแบคทีเรียด้วยสีเฉพาะช่วยในการศึกษาขนาด รูปร่าง การเรียงตัว และลักษณะโครงสร้างซึ่งเป็นคุณสมบัติหลักที่ใช้ในการวินิจฉัยแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียแต่ละกลุ่มมีคุณสมบัติในการติดสีที่ต่างกัน Gram stain ช่วยให้สามารถแยกแบคทีเรียออกเป็น 2 กลุ่ม โดยใช้เกณฑ์การติดสีหรือไม่ติดสีแรก (crystal violet = ติดสีน้ำเงิน) จัดเป็นกลุ่มของแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive) และกลุ่มแบคทีเรียที่ไม่ติดสี crystal violet แต่ติดสี safranin (ติดสีแดง) จัดเป็นกลุ่มของแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative)

วัตถุประสงค์

เพื่อให้ศึกษามีทักษะในการใช้เทคนิคการย้อมสีแกรมเพื่อการวินิจฉัยโรคติดเชื้อแบคทีเรียในสัตว์น้ำ

อุปกรณ์การทดลอง

1. เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์
2. สไลด์และกระจกปิดสไลด์
3. น้ำเกลือ 85 %
4. ชุดย้อม Gram stain

- crystal violet	- Gram's iodine
- decolorizer	- safranin
5. compound microscope
6. Oil immersion
7. กระจกเช็ดเลนส์

วิธีการทดลอง

1. นำตัวอย่างเชื้อบริสุทธิ์จากบทปฏิบัติการที่ 5 มา smear ในหยดน้ำเกลือ 85 % สไลด์ที่สะอาด เกลี่ยให้เป็นแผ่นฟิล์มบางๆ ทิ้งให้แห้ง
2. Fix ด้วยความร้อนโดยการผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง
3. หยด crystal violet ลงให้ท่วมแผ่นสไลด์เป็นเวลา 45 วินาที
4. ล้างออกด้วยน้ำสะอาด
5. หยด Gram's iodine ลงให้ท่วมแผ่นสไลด์เป็นเวลา 60 วินาที
6. ล้างออกด้วยน้ำสะอาด
7. หยด decolorizer ลงให้ท่วมแผ่นสไลด์เป็นเวลา 15 วินาที
8. ล้างออกด้วยน้ำสะอาด
9. หยด safranin ลงให้ท่วมแผ่นสไลด์เป็นเวลา 30 วินาที
10. ล้างออกด้วยน้ำสะอาด และทิ้งไว้ให้แห้ง
11. ส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100X
12. บันทึกการติดสีและลักษณะรูปร่างของแบคทีเรียตัวอย่าง

ใบรายงานบทปฏิบัติการที่ 6

เทคนิคการย้อมสีแกรมแบคทีเรียในการวินิจฉัยแบคทีเรีย

ชื่อ.....รหัสประจำตัว.....

สาขา.....ปีที่.....

ตารางบันทึกผลการทดลอง

เนื้อเยื่อ/อวัยวะ	ลักษณะรูปร่าง/โครงสร้าง	Gram Stain/ติดสี
ผิวหนัง		
ครีป		
เหงือก		
ตับ		

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

คำถาม

แบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive) และแกรมลบ (Gram negative) ต่างกันอย่างไร และเพราะเหตุใดจึงติดสีย้อมแกรมที่แตกต่างกัน

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

บทปฏิบัติการที่ 7

การตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์น้ำ

แบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้ออาจจะมีรูปร่างลักษณะที่คล้ายคลึงกัน แต่อาจแตกต่างกันในเรื่องของคุณสมบัติทางชีวเคมี ปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียมาเป็นชุดวินิจฉัยแบคทีเรียสำเร็จรูปที่ได้มาตรฐาน และเป็นที่ยอมรับ มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ เช่น API 20E, API 20NE, API 20trep เป็นต้น

สำหรับในบทปฏิบัติการนี้ ใช้ชุดวินิจฉัยแบคทีเรียสำเร็จรูป API 20E ในการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ซึ่ง API 20E ใช้การตรวจสอบแบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacteriaceae และแบคทีเรียแกรมลบอื่นๆ เป็นระบบพร้อมให้อยู่ในรูปกระปาะเล็กๆ ภายในบรรจุสารตั้งต้นสำหรับการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีจำนวน 20 รายการ



ตัวอย่างชุดวินิจฉัยแบคทีเรียสำเร็จรูป API 20E

วัตถุประสงค์

เพื่อให้นักศึกษาเข้าใจวิธีการในการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีในการวินิจฉัยชนิดของแบคทีเรีย และสามารถประยุกต์ใช้ในการวินิจฉัยชนิดของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคสัตว์น้ำ

อุปกรณ์การทดลอง

1. ตัวอย่างสารละลายเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์
2. ชุดทดสอบ API20E
3. สารเคมีที่ใช้ทดสอบ ชุดทดลอง API20E

- | | |
|-----------------|-----------------|
| -TDA reagent | - JAMES reagent |
| - VP 1 reagent | - VP 2 reagent |
| - NIT 1 reagent | - NIT 2 reagent |

- OX reagent

-Zn reagent

4. Mineral Oil
5. Pipettes
6. API 20 E Analytical Profile Index (คู่มือเปรียบเทียบผล) หรือ Software อ่านผล
7. สไลด์และกระจกปิดสไลด์
8. OF medium
9. น้ำเกลือ 0.85%
6. compound microscope
7. Oil immersion
8. กระจกเขี่ยเลนส์
9. MacConkey agar
10. หลอดทดลอง

วิธีการทดลอง

1. การเตรียม strip
 - 1.1 เตรียมกล่องพลาสติกที่ใช้สำหรับบ่ม ทำให้มีความชื้น โดยการใช้ น้ำกลั่นประมาณ 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลุมพลาสติก
 - 1.2 วาง strip ลงบนกล่องพลาสติก
2. การเชื่อมบริสุทธิ์ที่ได้จากทปฏิบัติการที่ 5 ลงใน strip
 - 2.1 การทดสอบ CIT , VP และ GEL เติมสารละลายของแบคทีเรียให้เต็มหลุม
 - 2.2 การทดสอบที่เหลือให้เติมสารละลายของแบคทีเรียแค่ขอบหลุม (tube)
 - 2.3 สำหรับการทดสอบที่ขีดเส้นใต้ ได้แก่ ADH , LDC , ODC , H₂S และ URE ให้หยด Mineral Oil ลงไปให้เต็มหลุม เพื่อให้มีสภาวะ Anaerobe.
 - 2.4 ปิดฝาแล้วนำไปบ่มแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-36 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3. การอ่านผล

3.1 หลังจาก incubate บ่มที่อุณหภูมิ 35-36 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

อ่านผลการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี โดยเปรียบเทียบกับตารางอ่านผลจากคู่มือ
แนะนำการใช้

3.2 อ่านและบันทึกผลการทดสอบของหลุมการทดสอบที่ไม่ต้องเติม reagent ก่อน

3.3 ถ้าผลการทดสอบของช่อง glu เป็นบวก หรือช่องการทดสอบ VP กับ GEL เป็น
บวกทั้งคู่ให้หยด reagent ลงในการทดสอบ ดังนี้

- TDA test หยด TDA reagent ลงไป 1 หยด ถ้าเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม บันทึกผล
เป็นบวก

- IND test หยด JAMES reagent ลงไป 1 หยด ถ้าเปลี่ยนเป็นสีชมพูทั้งหลุมทันที
บันทึกผลเป็นบวก หรือหยด IND reagent ลงไป 1 หยด ถ้าเกิดวงแหวนสีแดงขึ้น
หลังจากเติม reagent 2 นาที บันทึกผลเป็นบวก

- VP test หยด VP 1 และ VP 2 reagent อย่างละ 1 หยด รอประมาณ 10 นาที ถ้ามีสี
ชมพูหรือแดงเกิดขึ้น บันทึกผลเป็นบวก

- NO₂ test หยด NIT 1 และ NIT 2 อย่างละ 1 หยด ลงในช่อง Glu test รอประมาณ
3 นาที ถ้ามีสีแดงเกิดขึ้น บันทึกผลเป็นบวก ถ้าไม่มีการเปลี่ยนแปลง คือยังคง
เป็นสีเหลือง ให้เติม Zn reagent ลงไป ประมาณ 2 – 3 มิลลิกรัม รอประมาณ 5
นาที หากยังคงเป็นสีเหลืองอยู่ให้บันทึกผล NO₂ เป็นลบ และบันทึกผล N₂ เป็น
บวก แต่ถ้าเกิดสีชมพูแดง บันทึกผล NO₂ เป็นลบและ N₂ เป็นลบ

- การทดสอบ NO₂ และ IND จะต้องเติม reagent ลงไปหลังจากที่อ่านผลการ
ทดสอบอื่น ๆ เสร็จแล้ว เนื่องจาก NO₂ และ IND test เมื่อเติม reagent ลงไปจะเกิด
gas ที่จะมีผลทำให้การทดสอบชนิดอื่นเปลี่ยนแปลง และหลังจากเติม reagent แล้ว
ไม่ควรปิดฝากล่อง incubate

4 อาจะทำการทดสอบเพิ่มเติมดังนี้

4.1 OF Test โดย inoculate เชื้อทดสอบลงในอาหาร OF medium 2 หลอด เพื่อยืนยันการ metabolite glucose

4.2 ดูการเจริญบนอาหาร MacConkey โดย Streak เชื้อทดสอบลงบนอาหาร MacConkey agar plate

4.3 ทดสอบ Motility test โดย inoculate เชื้อลงในหลอดอาหาร Motile medium หรือ ตรวจดูการเคลื่อนที่บน Slide โดยใช้กล้องจุลทรรศน์

5. การแปลผล โดยเปรียบเทียบกับ Analytical Profile index หรือคือ ผลข้อมูลเป็นบวกหรือลบ ของการทดสอบแต่ละชนิดเข้าโปรแกรม APILAB Plus เพื่อทราบชนิดของเชื้อที่ทดสอบ

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

บทปฏิบัติการที่ 8

การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะ

เมื่อสัตว์น้ำเกิดโรคจากการติดเชื้อแบคทีเรีย จำเป็นต้องทำการตรวจสอบหาชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรค และทำการทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคว่ามีความไว (sensitive) หรือมีความต้านทาน (resistance) ต่อยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดอย่างไร ซึ่งคุณสมบัติของยาปฏิชีวนะต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเป็นสิ่งสำคัญในการเลือกชนิดของยามาใช้ในการรักษาโรค เพื่อการรักษาโรคที่เกิดขึ้นได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม

การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะ สามารถทำได้หลายวิธี สำหรับบทปฏิบัติการนี้จะทำการทดสอบโดยวิธี 1.การทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะโดยวิธีการใช้แผ่นยามาตรฐาน (Sensitive disc method)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้ นักศึกษา รู้และเข้าใจวิธีการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะ
2. เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกชนิดและความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมในการป้องกันและรักษาโรคสัตว์น้ำที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย

1.การทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะโดยวิธีการใช้แผ่นยามาตรฐาน (Sensitive disc method)

อุปกรณ์การทดลอง

1. เชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียตัวอย่าง
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ (ผสม NaCl 1.5% กรณีเชื้อที่เป็นสายพันธุ์น้ำเค็ม)
 - Nutrient broth
 - Muller-Hinton agar
3. แผ่นยาปฏิชีวนะมาตรฐาน (antibiotic disc)
4. น้ำเกลือปลอดเชื้อ (NaCl 0.85 %)

5. ก้านไม้พันสำลี (cotton swab)

6. spectrophotometer

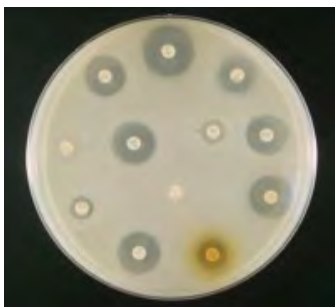
7. ตะเกียงแอลกอฮอล์

8. loop

9. forcep

วิธีการทดลอง

1. เพาะเชื้อตัวอย่างเชื้อลงใน nutrient broth และบ่มเป็นเวลา 18- 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส
2. เจือจางสารละลายเชื้อตัวอย่างด้วย NaCl 0.85 % จนได้ความขุ่นที่ OD ประมาณ 0.4 โดยเครื่อง spectrophotometer
3. ใช้ cotton swab จุ่มในสารละลายเชื้อจากข้อ 2. แล้วนำมาทาให้ทั่วผิวน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller-Hinton agar
4. วางทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 5-10 นาที แล้วใช้ forcep ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วคีบ antibiotic disc ที่ต้องการทดสอบ วางบนผิวน้ำอาหาร กดแผ่นยาให้ติดแน่นกับอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. บ่มทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส
6. อ่านผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของขนาดขอบใส (clear zone และ zone of inhibition) หน่วยเป็นมิลลิเมตรอ่านผลเป็น Resistance, Intermediate หรือ Sensitive



รูปแสดงตัวอย่างของ clear zone

ใบรายงานบทปฏิบัติการที่ 8

การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะ

ชื่อ.....รหัสประจำตัว.....

สาขา.....ปีที่.....

ตารางบันทึกผล

Culture No.	Antibiotics	clear zone (mm.)	Resule

Culture No.	Antibiotics	clear zone (mm.)	Resule

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

บทปฏิบัติการที่ 9

การแยกเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ

โรคติดเชื้อรา (Fungal diseases) มักเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำหลังจากที่สัตว์น้ำติดเชื้อชนิดอื่น (secondary infection) ส่วนใหญ่เกิดขึ้นบริเวณผิวหนังของสัตว์น้ำ และการติดเชื้อจะสัมพันธ์กับคุณภาพน้ำที่ไม่เหมาะสม Oomycete เป็นเชื้อรากลุ่มสำคัญและก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำอย่างกว้างขวาง ซึ่งเป็นกลุ่มของเชื้อราที่เส้นใยไม่มีผนังกัน สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างสปอร์ (zoospore)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้นักศึกษามีทักษะปฏิบัติการการแยกเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ
2. เพื่อให้นักศึกษารู้จักลักษณะของเชื้อราที่ก่อโรคในสัตว์น้ำ

อุปกรณ์การทดลอง

1. ตัวอย่างปลาที่มีชีวิต
2. ชุดเครื่องมือผ่าตัดและถาดผ่าตัด
3. สไลด์และกระจกปิดสไลด์
4. น้ำกลั่น
5. compound microscope
6. เข็มเย็บ
7. อาหารเลี้ยงเชื้อรา Glucose peptone (GP) medium
8. ยาปฏิชีวนะ penicillin และ streptomycin sulphate
9. cotton swab
10. petri dish
11. Erlenmeyer flask

วิธีการทดลอง

การแยกเชื้อราจากสัตว์น้ำ

1. นำตัวอย่างปลาที่แสดงอาการติดเชื้อรา เช่น พบเส้นใยของเชื้อราบริเวณของผิวหนัง ใช้ cotton swab ที่ปราศจากเชื้อ เชี่ยวบริเวณแผลที่มีเชื้อรา แล้วแช่ไว้ในขวดที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ GP broth ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ซึ่งผสมยาปฏิชีวนะ penicillin และ streptomycin sulphate ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย
2. กรณีที่ปลาตัวอย่างไม่แสดงอาการภายนอก ให้ทำความสะอาดผิวหนังปลาด้วยแอลกอฮอล์ 70 % แล้วใช้ใบมีดผ่าตัดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วกรีดบริเวณผิวหนังให้ลึกถึงชั้นกล้ามเนื้อ เป็นขนาด กว้าง × ยาว × หนา ประมาณ $1 \times 1 \times 0.1$ เซนติเมตร ใส่ชิ้นเนื้อลงในขวดที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ GP broth
3. บ่มที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
4. สังเกตการเจริญของเชื้อราในอาหาร
5. นำ cotton swab หรือชิ้นเนื้อที่มีการเจริญของ mycelium ในอาหารเลี้ยงเชื้อมาล้างด้วยน้ำกลั่น ช้นน้ำให้แห้ง
6. ใช้เข็มเย็บบริเวณขอบของ mycelium ออกมาเพียงเล็กน้อย วางลงตรงกลางของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ GP agar ที่ผสมยาปฏิชีวนะ
7. บ่มที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-4 วัน สังเกตการเจริญของเชื้อราในอาหาร
8. ใช้เข็มเย็บแยก mycelium ของเชื้อราที่เจริญบนผิวหนังอาหารออกมาเพียงเล็กน้อย และลงบนสไลด์ที่มีหยดน้ำอยู่
9. ส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อศึกษาลักษณะรูปร่างของ hyphae ของเชื้อราที่แยกได้
10. เมื่อพบปรสิตรูปแบบต่างๆ ให้ทำการแยกปรสิตร และเตรียมสไลด์ชั่วคราวในน้ำเกลือ พร้อมวาดภาพลักษณะของปรสิตรเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดที่พบในตัวอย่างสัตว์น้ำต่อไป
11. บันทึกชนิด ปริมาณ และตำแหน่งของปรสิตรที่พบ

ใบรายงานบทปฏิบัติการที่ 9

การแยกเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ

ชื่อ.....รหัสประจำตัว.....

สาขา.....ปีที่.....

Case No.....

วันที่...../...../.....

ผู้วินิจฉัย.....

ชนิดปลา.....น้ำหนัก/ความยาว.....

แหล่งที่มาของตัวอย่าง.....

ตารางบันทึกผล

ลักษณะเชื้อรา	ชนิด..... ตำแหน่งที่พบ.....
ลักษณะเชื้อรา	ชนิด..... ตำแหน่งที่พบ.....

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

บทปฏิบัติการที่ 10

การเตรียมวัคซีนเพื่อป้องกันโรคปลา

เป้าหมายของการผลิตวัคซีนมีไว้เพื่อป้องกันการเกิดและการระบาดของโรค แต่ในสัตว์น้ำยังไม่ประสบความสำเร็จเหมือนกับมนุษย์และสัตว์บก การให้วัคซีนเพื่อกระตุ้นให้สัตว์น้ำมีความต้านทานต่อโรคติดเชื้ออย่างจำเพาะเจาะจง เป็นแนวทางการป้องกันโรคที่มีประสิทธิภาพ และช่วยลดความสูญเสียที่อาจเกิดขึ้นจากการระบาดของโรคได้อย่างดี และไม่ก่อให้เกิดผลกระทบในทางลบ เช่น ไม่มีการสะสมในรูปที่เป็นพิษ ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เป็นต้น โดยประสิทธิภาพของวัคซีนขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น อุณหภูมิ ชนิดของวัคซีน ปริมาณของวัคซีนที่ใช้ อายุของสัตว์น้ำ และวิธีการให้วัคซีน เป็นต้น

วัตถุประสงค์

เพื่อให้นักศึกษาได้ฝึกเทคนิคบางประการในการเตรียมวัคซีนเพื่อป้องกันโรคปลา

อุปกรณ์การทดลอง

1. ตัวอย่างปลาที่มีชีวิต
2. แบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila*
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

- nutrient broth
- nutrient agar
4. น้ำเกลือ 0.85 %
5. เครื่อง centrifuge
6. เครื่อง vortex mixer
7. ฟอर्मาลิน 0.1 %
8. เข็มฉีดยา (syringe) ขนาด 3 มิลลิลิตร
9. ขาสลอบ

10. Multi-welled microplate แบบกันหลุมมน มีทั้งหมด 96 หลุม

11. automatic pipette ขนาด 50 ไมโครลิตร

12. แผ่นพาราฟิน

วิธีการทดลอง

การเตรียมวัคซีน

1. เลี้ยงเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ใน Nutrient broth บ่มเป็นเวลา 18- 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส สังเกตว่ามีความขุ่นค่อนข้างมาก
2. นำ broth จากข้อ 1. มาปั่นด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 2,500-3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้แบคทีเรียตกตะกอน
3. ทำความสะอาดแบคทีเรียด้วยการปั่นกับน้ำเกลือ 0.85 % ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หลังจากปั่นแล้ว ให้เทสารละลายทิ้ง และเติมน้ำเกลือใหม่ เขย่าให้ตะกอนแบคทีเรียกระจายรวมกับน้ำเกลือ โดยใช้ vortex mixer แล้วนำไปปั่น ทำเช่นนี้ซ้ำ 2 ครั้ง
4. หลังจากล้างน้ำสุดท้ายแล้วใส่น้ำเกลือ 0.85 % ลงในตะกอนแบคทีเรีย เขย่าให้ตะกอนแบคทีเรียกระจายรวมกับน้ำเกลือ จนได้ความขุ่นของแบคทีเรียประมาณมีเซลล์แบคทีเรีย 10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (เทียบกับมาตรฐาน)
5. เติมฟอร์มาลินลงในสารละลายแบคทีเรียในข้อ 4 ให้ได้ความเข้มข้นของฟอร์มาลินประมาณ 1% ทิ้งไว้ค้างคืนในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส
6. วันต่อมา นำสารละลายแบคทีเรียในข้อ 5 มาปั่นทำความสะอาดเพื่อเอาฟอร์มาลินออกด้วยน้ำเกลือ 0.85 % ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง แล้วเติมน้ำเกลือลงไปจนได้ความเข้มข้นเซลล์แบคทีเรียประมาณ 10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร
7. ทำการตรวจสอบดูว่าแบคทีเรียยังมีชีวิตอยู่หรือไม่ โดยการเขี่ยสารละลายแบคทีเรียในข้อ 6 ลงบน Nutrient agar บ่มเป็นเวลา 18- 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง
8. หากมีเชื้อขึ้นให้ใส่ฟอร์มาลินลงไปใหม่และทำเหมือนข้อ 5-7 ใหม่อีกครั้ง

9. ทำการเก็บรักษาแบคทีเรียที่ผ่านการตรวจสอบในข้อ 7 และไม่มีเชื้อขึ้นด้วยฟอร์มาลินเข้มข้น 0.1 % และให้ความเข้มข้นของเซลล์แบคทีเรียประมาณ 10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาใช้ต่อไป

การเจาะเลือด

1. วางยาสลบปลา ในปริมาตรที่ทำให้ปลามีการตอบสนองน้อย เพื่อลดความเครียดระหว่างเจาะเลือด
2. เมื่อปลาสลบจับปลาหงายเอาส่วนท้องขึ้น แล้วสอดเข็มเข้าข้างตัวเบาๆ จนรู้สึกกระทบกระดูก vertebrae ซึ่งจะเป็นตำแหน่งของ Caudal vein เลือดจะไหลเข้ามาตามเข็ม ขณะที่เลือดไหลเข้าหลอดไม่ควรเคลื่อนไหวเพราะอาจทำให้เลือดหยุดไหล ควรเก็บเลือดให้ได้ไม่ต่ำกว่า 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อให้เลือดแข็งตัว
3. นำเลือดที่ได้เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส ประมาณ 12 ชั่วโมง เพื่อให้เลือดแข็งตัวสมบูรณ์ และแยกเอาส่วนซีรัมไว้ตรวจวัดปริมาณแอนติบอดี (antibody) ต่อไป
4. กรณีที่เม็ดยาเจาะหรือแข็งตัวไม่ดี ให้นำไปปั่นด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วแช่ไว้ใน freezer

การหาปริมาณ Antibody Titer โดยวิธี Agglutination Test

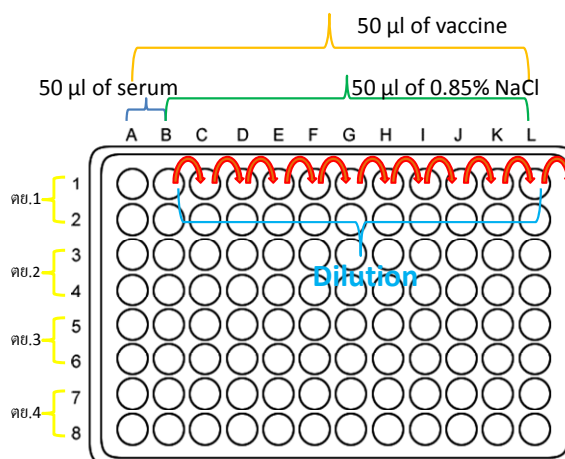
1. การวัด titer ทำใน microplate จำนวน 96 หลุม
2. ทำการ serial two-fold dilution ของซีรัมที่ได้จากการเตรียมในขั้นตอนการเจาะเลือดโดยใช้ น้ำเกลือ 0.85 % ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยใช้ในอัตรา ซีรัม 50 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำเกลือ 50 ไมโครลิตร ทำการ dilution จนได้ 1: 2048 โดยใช้ automatic pipette
3. ใส่ antigen ที่ได้จากขั้นตอนการเตรียมวัคซีนขึ้นชั้นใน ทุกๆ หลุมของซีรัมทุก dilution ในอัตรา 50 ไมโครลิตร
4. เตรียม negative control โดยใช้ antigen กับน้ำเกลือ 0.85 % ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (ไม่ใส่ซีรัม)
5. ปิด microplate ด้วย พาราฟินแผ่น บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12- 24 ชั่วโมง
6. การอ่านและรายงานผลการทดลอง

การจับตัวกันระหว่าง Antibody (Ab) กับ Antigen (Ag) จะเกิดเป็น network ระหว่าง Ab-Ag จำนวนมาก จึงทำให้ไม่มี Ag (แบบที่เรีย) อิสระเหลือในหลุมการทดลอง แต่หากไม่มี Ab ก็จะทำให้ Ag อยู่อย่างอิสระและตกตะกอนเป็นจุดขาวให้เห็น

+ หมายถึง dilution (หลุม) ที่ไม่มีจุดขาว

- หมายถึง dilution (หลุม) ที่มีจุดขาว

การรายงานจะเรียกเป็นค่า Antibody Titer ซึ่งดูจาก dilution สุดท้ายในแต่ละตัวอย่างที่ให้ผลเป็น positive (+)



ชื่อ.....รหัสประจำตัว.....

สาขา.....ปีที่.....

ครั้งที่ 1 (ก่อนให้วัคซีน)

[illegible]

ครั้งที่ 2 (หลังให้วัคซีน 1 สัปดาห์)

[illegible]

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

เอกสารอ้างอิง

- กิจการ สุขุมมาตย์. 2538. **คู่มือปฏิบัติการโรคและพยาธิปลา**. ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะทรัพยากรธรรมชาติ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 62 หน้า.
- ชลอ ลีมสุวรรณ. 2528. **โรคปลา**. ภาควิชาชีววิทยาประมง, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, , กรุงเทพฯ. 227 หน้า.
- นนทวิทย์ อารีชัยน 2537. **การวินิจฉัยและการควบคุมโรคในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ** ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, , กรุงเทพฯ. 75 หน้า.
- นพดล สุกระกาญจน์ 2549. **คู่มือปฏิบัติการโรคสัตว์น้ำ** ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา. 103 หน้า.
- ปณรัตน์ ผาดี 2552. **โรคและการวินิจฉัยโรค**. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 192 น.
- วัชรียา ภูริวิโรจน์กุล. 2556. **ปรสิตวิทยาของสัตว์น้ำ** ภาควิชาสัตววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 655 หน้า.
- วรวิทย์ มณีพิทักษ์สันติ. 2550. **ปรสิตเซลล์เดียวที่มีผลจากเลือดปลาน้ำจืดบางชนิดของประเทศไทย**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Ali, E.H. 2005. **Morphological and biochemical alteration of oomycete fish pathogen *Saprolegnia parasitica* as effected by salinity, ascorbic acid and their synergistic action**. Mycopathologia 159 : 231-243 .
- Anderson, D.P. 1974. **Fish Immunology**, T.F.H. Publications, Inc. Ltd., Neptune City, New Jersey. 239 p.
- BioMerieux, Ina. 2002. **API 20E Identification system for Enterobacteriaceae and other non-fastidious Gram-negative rods**. Ref 20 100/20 160.

- Brown, L. 1993. Aquaculture for veterinarians : **fish husbandry and medicine**. Pergamon Press, Oxford. 447 p.
- Bullock, G.L. 1971. **The identification of fish pathogenic bacteria**. Book 2 B. The Disease of Fishes. Jersey City N.J. : T.F.H. Pub., Inc.
- Bullock, G.L., D.A. Conroy and S.F. Snieszko. 1971. **Bacterial disease of fish.. Book 2 A. The Disease of Fishes**. Jersey City N.J. : T.F.H. Pub., Inc.
- De Kinkelin, P.(ed.). 1984. Symposium on Fish Vaccination : **Theoretical Background and Practical Results on Immunization against Infectious Diseases**. Office International des Epizooties, Paris. 248 p.
- Ellis, A.E. (ed.). 1988. **Fish Vaccination**. Academic Press, New York. 255 p.
- Hoffman, G.L. and F.P. Meyer. 1974. **Parasites of Freshwater Fishes**. Jersey City, N.J. : T.F.H. Pub., Inc.
- Konema, E.W., S.D. Allen, V.R. Dowel and H.M. Sommers. 1979. **Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology**. J.B. Lippincott Company , Philadelphia.
- MacFaddin, J.F. 1980. **Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria**, 2nd ed. Williams & Wilkins. Baltimore. 572 p.
- Plumb, J.A. and P.R. Bowser. 1982. **A laboratory manual of microbial fish disease**. Department of Fisheries and Allied Aquaculture, Auburn University, Alabama.
- Prescott, L.M., J.P. and Klein, D.A. 2002. **Microbiology (Fifth edition)** . McGraw Hill Higher Education, New York. 1026 p.
- Roberts, R.J. 2001. **Fish Pathology (third edition)**. W.B. Saunders. London. 472 p.

Stoskopf, M.K. 1993. **Fish Medicine**. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 882 p.

Stolen, J.S., T.C. Fletcher, D.P. Anderson, B.S. Roberson and W.B. van Muiswinkel (eds.). 1990. Techniques in Fish Immunology : **Fish Immunology Technical Communications No.1**. SOS Publication, Fair Haven, New Jersey. 222 p.

Whitman, K.A. 2004. **Finfish and shellfish bacteriology manual: techniques and procedures**. Iowa State Press, A Blackwell Publishing Company. 258p.

Woo, P.T.K. and Bruno, D.W. 1999. Fish Diseases and Disorder Volume 3 : **Viral, Bacterial and Fungal Infection**. CABI Publishing. New York. 874 p.

หนังสือตอบรับการเป็นผู้ทรงคุณวุฒิเพื่อประเมินตำรา

ตามที่คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
เรียนเชิญข้าพเจ้าเป็นคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิทำหน้าที่ประเมินผลงานทางวิชาการ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง เพื่อการรับรองคุณภาพประเภท งานแต่ง เรียบเรียง
ตำรา หรือหนังสือ ของ นางสาวจันทนา เรือง คู่มือปฏิบัติการโรคและปรสิตสัตว์น้ำ นั้น ข้าพเจ้าได้
รับทราบแล้ว และ

- ☒ ยินดีพิจารณาผลงานทางวิชาการ
☐ ไม่สามารถพิจารณาผลงานทางวิชาการได้

ในการนี้ ข้าพเจ้าได้ให้ที่อยู่ซึ่งสามารถติดต่อได้สะดวก (พร้อมหมายเลขโทรศัพท์)
ในโอกาสต่อไป ดังนี้

179 2.3 ๓.15 พ.ค ๐.31 ก. ๐.๗๖
0817544949

สาขาอื่นที่สามารถพิจารณาได้.....

ปัจจุบันดำรงตำแหน่งทางวิชาการ ☐ อาจารย์ ☒ ผศ. ☐ รศ. ☐ ศ.

คุณวุฒิทางการศึกษา/สาขาวิชา/สถาบันการศึกษา.....

Ph.D Agricultural Science, Tohoku University
Japan

ลงชื่อ.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ เกิดปราง)

วันที่ 20 / พค. / 57

สำนักงานคนบตี

โทร. ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

โทรสาร ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

แบบประเมินตำรา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

1. ข้อมูลเบื้องต้นของตำรา

ตำรานี้ใช้สำหรับการเรียนการสอนในรายวิชา.....

ระดับ.....

ภาคเรียน.....

คณะ/วิทยาลัย.....

2. เกณฑ์สำหรับประเมิน

2.1 ความถูกต้องและความทันสมัยของเนื้อหา หมายถึง เนื้อหาถูกต้องตามหลักวิชาการของศาสตร์ในสาขาวิชานั้น ๆ และความถูกต้องนั้นเป็นที่ยอมรับกันว่าถูกต้องในปัจจุบัน สิ่งที่ควรพิจารณา เช่น ทฤษฎี สูตร กฎการทดลอง ข้อมูล การตีความหมาย หลักฐานการอ้างอิง ศักยภาพ ฯลฯ (ยกเว้นการเสนอ กฎ หรือทฤษฎี แนวคิดใหม่)

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.2 ความสมบูรณ์และความลึก หมายถึง ความครบถ้วนของเนื้อหาหรือเรื่องราวที่ถือเป็นขอบข่ายของชื่อตำราแต่ละบทแต่ละตอน ประกอบด้วยรายละเอียดซึ่งเป็นหลักวิชาการของศาสตร์ ในสาขาวิชานั้น ๆ มีคำอธิบายและตัวอย่าง เพื่อขยายหลักวิชาอย่างละเอียดถี่ถ้วน ควรมีส่วนประกอบที่สำคัญของตำรา เช่น คำนำ สารบัญ ตาราง บัญชีภาพหรือแผนภูมิประกอบ ฯลฯ ซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่การอ่าน การค้นหาในโอกาสต่อไป

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.3 การจัดเรียงลำดับเนื้อหา หมายถึง ลำดับขั้นตอนในการเสนอเรื่องราวที่จะสอน เพื่อความเข้าใจง่ายของผู้เรียน หรือ ผู้อ่าน

เรียงเนื้อหาจาก การจัดการเรียน ลำดับใหม่ เนื้อหา
จาก ลำดับเดิม

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☐ ดี

2. ☒ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.4 รูปแบบในการเขียน หมายถึง ในแต่ละเรื่องที่เขียนระบุความคิดรวบยอดของเรื่องชัดเจนและมีการอธิบายขยายความคิดรวบยอดนั้น ๆ ในลักษณะสามารถสื่อความหมายได้ดีพอสมควร อาจมีภาพ แผนภูมิ ตาราง ฯลฯ ประกอบเพื่อความเข้าใจและให้น่าสนใจ มีความประณีตในการจัดวรรคตอนแต่ละช่องไฟ มีการอ้างอิงแหล่งวิชาการในที่ควรอ้างอิง มีแบบแผนในการเขียนอ้างอิงจัดทำบรรณานุกรมและภาคผนวกไว้อย่างเหมาะสม

4. โครงสร้างการเขียนที่ถูกต้องและเหมาะสม
เนื้อหาได้ใจความ
ตัวอักษรพิมพ์ชัดเจน

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☐ ดี

2. ☒ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.5 การศึกษาค้นคว้าเพื่อสนับสนุนการเขียนตำรา หมายถึง ปริมาณการศึกษาค้นคว้าตำรา เอกสาร และ/หรือ รายงานการวิจัยที่จะช่วยให้ผู้เรียนมีความรู้ความสามารถ ในรายวิชานั้น หรือให้ผู้อ่านได้มีความรู้และสามารถสืบค้นเพิ่มเติมได้อย่างกว้างขวาง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

- ผลการประเมิน 1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☐ ดีมาก ☒ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.6 ความเหมาะสมและความถูกต้องในการใช้ภาษา หมายถึง การใช้ภาษาในการเขียนเป็นแบบแผนของภาษาไทย ใช้ศัพท์บัญญัติ ศัพท์ทางเทคนิค รวมทั้งตัวสะกด การันต์ ถูกต้อง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

จิมการเป็นต้นฉบับ วราชนา ๑๖ มกราคม
และการใช้ตัวสะกด

- ผลการประเมิน 1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☐ ดีมาก ☐ ดี
2. ☒ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.7 การเสนอแนวคิดของตนเอง หมายถึง การสอดแทรกความคิด ความเห็นเพิ่มเติมในตอนต่าง ๆ ของเรื่อง อาจจะเป็นข้อวิพากษ์วิจารณ์ คำสรุป ข้อเสนอแนะ การประยุกต์เนื้อหาสาระต่าง ๆ รวมทั้งแนวคิดและความรู้ใหม่ที่เกิดจากการวิเคราะห์และสังเคราะห์

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2.8 คุณค่าของตำรา หมายถึง ประโยชน์ ความสำคัญและความเชื่อถือได้ ในการที่นำตำรา ไปใช้ประกอบการสอน หรือใช้เพื่อสื่อการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม และใช้อ้างอิง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.9 ความเห็นอื่น ๆ

3. สรุปผลการประเมินตำรา

(โดยจะต้องสอดคล้องกับเกณฑ์การประเมินในข้อ 2.1-2.8)

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☐ ดีมาก ☒ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะและส่งผลงานให้อ่านใหม่อีกครั้ง
3. ☐ ต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะก่อนเผยแพร่ผลงานครั้งใหม่
4. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

4. สรุปผลประเมิน โปรดสรุปผลการประเมินผลงานตำรา และเสนอความคิดเห็นด้วย
(โปรดดูตัวอย่าง)

ขอแนะนำว่า เนื้อหา เนื้อหาในการใช้ประกอบการสอน
 ในรายวิชา... แต่ต้องมีการปรับปรุงแก้ไขเนื้อหาให้สอดคล้อง
 กับเนื้อหาในหลักสูตร

ลงชื่อ.....



กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิฯ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรุณี เกิดปราง)

29 / พ.ค. / 57

หนังสือตอบรับการเป็นผู้ทรงคุณวุฒิเพื่อประเมินตำรา

ตามที่คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
เรียนเชิญข้าพเจ้าเป็นคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิทำหน้าที่ประเมินผลงานทางวิชาการ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง เพื่อการรับรองคุณภาพประเภท งานแต่ง เรียบเรียง
ตำรา หรือหนังสือ ของ นางสาวจันทนา ศรีเนียม เรื่อง คู่มือปฏิบัติการโรคและปรสิตตัวน้ำ นั้น
ข้าพเจ้าได้รับทราบแล้ว และ

- ☒ ยินดีพิจารณาผลงานทางวิชาการ
☐ ไม่สามารถพิจารณาผลงานทางวิชาการได้

ในการนี้ ข้าพเจ้าได้ให้ที่อยู่ซึ่งสามารถติดต่อได้สะดวก (พร้อมหมายเลขโทรศัพท์)

ในโอกาสต่อไป ดังนี้

สำนักงานอธิบดีกรมประมง อาคารวิทยาสรรค์และเทคโนโลยีประมง
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
171 ม.3 ต.ไม้ฝาง อ.สิเกา จ.สงขลา 92150 0606441205
สาขาอื่นที่สามารถพิจารณาได้.....

ปัจจุบันดำรงตำแหน่งทางวิชาการ ☐ อาจารย์ ☒ ผศ. ☐ รศ. ☐ ศ.

คุณวุฒิทางการศึกษา/สาขาวิชา/สถาบันการศึกษา
ศาสตราจารย์ ดร.สิริพร นิลมณี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลงชื่อ.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์มานิช ขำเจริญ)
วันที่ 20/พ.ค./57

สำนักงานคณบดี

โทร. ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

โทรสาร ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

แบบประเมินตำรา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

1. ข้อมูลเบื้องต้นของตำรา

ตำรานี้ใช้สำหรับการเรียนการสอนในรายวิชา.....

ระดับ.....

วิชา.....

คณะ/วิทยาลัย.....

2. เกณฑ์สำหรับประเมิน

2.1 ความถูกต้องและความทันสมัยของเนื้อหา หมายถึง เนื้อหาถูกต้องตามหลักวิชาการของศาสตร์ในสาขาวิชานั้น ๆ และความถูกต้องนั้นเป็นที่ยอมรับกันว่าถูกต้องในปัจจุบัน สิ่งที่ควรพิจารณา เช่น ทฤษฎี สูตร กฎการทดลอง ข้อมูล การตีความหมาย หลักฐานการอ้างอิง ศักยภาพ ฯลฯ (ยกเว้นการเสนอ กฎ หรือทฤษฎี แนวคิดใหม่)

เนื้อหาถูกต้อง และทันสมัย ถูกต้องเป็นส่วนใหญ่

ผลการประเมิน

1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.2 ความสมบูรณ์และความลึก หมายถึง ความครบถ้วนของเนื้อหาหรือเรื่องราวที่ถือเป็นขอบข่ายของชื่อตำราแต่ละบทแต่ละตอน ประกอบด้วยรายละเอียดซึ่งเป็นหลักวิชาการของศาสตร์ ในสาขาวิชานั้น ๆ มีคำอธิบายและตัวอย่าง เพื่อขยายหลักวิชาอย่างละเอียดถี่ถ้วน ควรมีส่วนประกอบที่สำคัญของตำรา เช่น คำนำ สารบัญ ตาราง บัญชีภาพหรือแผนภูมิประกอบ ฯลฯ ซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่การอ่าน การค้นหาในโอกาสต่อไป

ในเล่มประกอบ มีภาพประกอบ และตารางที่ช่วยให้การอ่านเข้าใจง่ายขึ้น และมีความน่าสนใจ

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☒ ดี

2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.3 การจัดเรียงลำดับเนื้อหา หมายถึง ลำดับขั้นตอนในการเสนอเรื่องราวที่จะสอน เพื่อความเข้าใจง่ายของผู้เรียน หรือ ผู้อ่าน

การจัดเรียงเนื้อหา มีหลายเรื่องยาก ให้พิจารณา
ว่า วิชาใดยากขึ้นก่อน

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.4 รูปแบบในการเขียน หมายถึง ในแต่ละเรื่องที่เขียนระบุความคิดรวบยอดของเรื่องชัดเจนและมีการอธิบายขยายความคิดรวบยอดนั้น ๆ ในลักษณะสามารถสื่อความหมายได้ดีพอสมควร อาจมีภาพ แผนภูมิ ตาราง ฯลฯ ประกอบเพื่อความเข้าใจและให้น่าสนใจ มีความประณีตในการจัดวรรคตอนแต่ละช่องไฟ มีการอ้างอิงแหล่งวิชาการในที่ควรอ้างอิง มีแบบแผนในการเขียนอ้างอิงจัดทำบรรณานุกรมและภาคผนวกไว้อย่างเหมาะสม

รูปแบบการเขียน มีภาพ แผนภูมิ ตาราง ฯลฯ
ผู้เขียนต้องจัดวรรคตอนแต่ละช่องไฟ มีการอ้างอิงแหล่งวิชาการใน
ที่ควรอ้างอิง มีแบบแผนในการเขียนอ้างอิงจัดทำบรรณานุกรมและภาคผนวกไว้อย่างเหมาะสม

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.5 การศึกษาค้นคว้าเพื่อสนับสนุนการเขียนตำรา หมายถึง ปริมาณการศึกษาค้นคว้าตำรา เอกสาร และ/หรือ รายงานการวิจัยที่จะช่วยให้ผู้เรียนมีความรู้ความสามารถ ในรายวิชานั้น หรือให้ผู้อ่านได้มีความรู้และสามารถสืบค้นเพิ่มเติมได้อย่างกว้างขวาง

สรุปสาระสำคัญของเอกสาร สืบค้นงานวิจัย สืบค้นเว็บไซต์
เอกสารอื่น ๆ

ผลการประเมิน 1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.6 ความเหมาะสมและความถูกต้องในการใช้ภาษา หมายถึง การใช้ภาษาในการเขียนเป็นแบบแผนของภาษาไทย ใช้ศัพท์บัญญัติ ศัพท์ทางเทคนิค รวมทั้งตัวสะกด การเว้นวรรคถูกต้อง

ความถูกต้องในการใช้ภาษา สำนวนพจนานุกรม
หรือคำอื่น ๆ ในภาษาไทย

ผลการประเมิน 1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.7 การเสนอแนวคิดของตนเอง หมายถึง การสอดแทรกความคิด ความเห็นเพิ่มเติมในตอนต่าง ๆ ของเรื่อง อาจจะเป็นข้อวิพากษ์วิจารณ์ คำสรุป ข้อเสนอแนะ การประยุกต์เนื้อหาสาระต่าง ๆ รวมทั้งแนวคิดและความรู้ใหม่ที่เกิดจากการวิเคราะห์และสังเคราะห์

นักเรียนเสนอแนวคิดของตนเอง ต่อข้อข้อข้อข้อ

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2.8 คุณค่าของตำรา หมายถึง ประโยชน์ ความสำคัญและความเชื่อถือได้ ในการที่นำตำรา ไปใช้ประกอบการสอน หรือใช้เพื่อสื่อการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม และใช้อ้างอิง

ตำรา มีคุณค่า ใช้ประกอบการสอนและใช้ในการค้นคว้าเพิ่มเติมได้

ผลการประเมิน

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.9 ความเห็นอื่น ๆ

ขอเพิ่มในข้อนี้เพื่อเพิ่มให้ในทฤษฎีเพื่อเพิ่มข้อมูล
 เกี่ยวกับกรณีศึกษา
 - ควรเพิ่มในข้อนี้เพื่อเพิ่มข้อมูลเกี่ยวกับกรณีศึกษา
 - ควรเพิ่มในข้อนี้เพื่อเพิ่มข้อมูลเกี่ยวกับกรณีศึกษา

3. สรุปผลการประเมินตำรา

(โดยจะต้องสอดคล้องกับเกณฑ์การประเมินในข้อ 2.1-2.8)

1. ☒ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☐ ดีมาก ☒ ดี
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะและส่งผลงานให้อ่านใหม่อีกครั้ง
3. ☐ ต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะก่อนเผยแพร่ผลงานครั้งใหม่
4. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

4. สรุปผลประเมิน โปรดสรุปผลการประเมินผลงานตำรา และเสนอความคิดเห็นด้วย
(โปรดดูตัวอย่าง)

ผ่านเกณฑ์การประเมิน. เนื้อหาดีและน่าสนใจโดย

ลงชื่อ..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิฯ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์มาโนช ขำเจริญ)
 ๑๐, พ.ค, ๕๗

หนังสือตอบรับการเป็นผู้ทรงคุณวุฒิเพื่อประเมินตำรา

ตามที่คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
เรียนเชิญข้าพเจ้าเป็นคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิทำหน้าที่ประเมินผลงานทางวิชาการ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง เพื่อการรับรองคุณภาพประเภท งานแต่ง เรียบเรียง
ตำรา หรือหนังสือ ของ นางสาวจันทนา ศรีเนียม เรื่อง คู่มือปฏิบัติการโรคและปรสิตสัตว์น้ำ นั้น
ข้าพเจ้าได้รับทราบแล้ว และ

- ☒ ยินดีพิจารณาผลงานทางวิชาการ
☐ ไม่สามารถพิจารณาผลงานทางวิชาการได้

ในการนี้ ข้าพเจ้าได้ให้ที่อยู่ซึ่งสามารถติดต่อได้สะดวก (พร้อมหมายเลขโทรศัพท์)
ในโอกาสต่อไป ดังนี้

สาขาอื่นที่สามารถพิจารณาได้..... ม.เทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย, ม.อพรรัตนเทพ

ปัจจุบันดำรงตำแหน่งทางวิชาการ ☐ อาจารย์ ☒ ผศ. ☐ รศ. ☐ ศ.

คุณวุฒิทางการศึกษา/สาขาวิชา/สถาบันการศึกษา.....

Ph.D. (Fish Parasitology) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลงชื่อ.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธีรวุฒิ เลิศสุทธิवाल)

วันที่ 29, 5, 57

สำนักงานคณบดี

โทร. ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

โทรสาร ๐ ๗๕๒๗๔ ๐๖๔

แบบประเมินตำรา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

1. ข้อมูลเบื้องต้นของตำรา

ตำรานี้ใช้สำหรับการเรียนการสอนในรายวิชา.....ฟิสิกส์/คณิตศาสตร์
ระดับ.....ปริญญาตรี.....ภาคเรียน.....
คณะ/วิทยาลัย.....คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

2. เกณฑ์สำหรับประเมิน

2.1 ความถูกต้องและความทันสมัยของเนื้อหา หมายถึง เนื้อหาถูกต้องตามหลักวิชาการของศาสตร์ในสาขาวิชานั้น ๆ และความถูกต้องนั้นเป็นที่ยอมรับกันว่าถูกต้องในปัจจุบัน สิ่งที่ควรพิจารณา เช่น ทฤษฎี สูตร กฎการทดลอง ข้อมูล การตีความหมาย หลักฐานการอ้างอิง ศักยภาพ ฯลฯ (ยกเว้นการเสนอ กฎ หรือทฤษฎี แนวคิดใหม่)

- ผลการประเมิน 1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☐ ดีมาก ☒ ดี
2. ☒ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข (ส่วนใหญ่) ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.2 ความสมบูรณ์และความลึก หมายถึง ความครบถ้วนของเนื้อหาหรือเรื่องราวที่ถือเป็นขอบข่ายของชื่อตำราแต่ละบทแต่ละตอน ประกอบด้วยรายละเอียดซึ่งเป็นหลักวิชาการของศาสตร์ ในสาขาวิชานั้น ๆ มีคำอธิบายและตัวอย่าง เพื่อขยายหลักวิชาอย่างละเอียดถี่ถ้วน ความมีส่วนประกอบที่สำคัญของตำรา เช่น คำนำ สารบัญ ตาราง บัญชีภาพหรือแผนภูมิประกอบ ฯลฯ ซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่การอ่าน การค้นหาในโอกาสต่อไป

- ผลการประเมิน 1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☒ ดีมาก ☐ ดี
2. ☒ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข (ส่วนใหญ่) ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.3 การจัดเรียงลำดับเนื้อหา หมายถึง ลำดับขั้นตอนในการเสนอเรื่องราวที่จะสอน เพื่อความเข้าใจง่ายของผู้เรียน หรือ ผู้อ่าน

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.4 รูปแบบในการเขียน หมายถึง ในแต่ละเรื่องที่เขียนระบุความคิดรวบยอดของเรื่องชัดเจนและมีการอธิบายขยายความคิดรวบยอดนั้น ๆ ในลักษณะสามารถสื่อความหมายได้ดีพอสมควร อาจมีภาพ แผนภูมิ ตาราง ฯลฯ ประกอบเพื่อความเข้าใจและให้น่าสนใจ มีความประณีตในการจัดวรรคตอนแต่ละช่องไฟ มีการอ้างอิงแหล่งวิชาการในที่ควรอ้างอิง มีแบบแผนในการเขียนอ้างอิงจัดทำบรรณานุกรมและภาคผนวกไว้อย่างเหมาะสม

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข

3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

2.5 การศึกษาค้นคว้าเพื่อสนับสนุนการเขียนตำรา หมายถึง ปริมาณการศึกษาค้นคว้าตำรา เอกสาร และ/หรือ รายงานการวิจัยที่จะช่วยให้ผู้เรียนมีความรู้ความสามารถ ในรายวิชานั้น หรือให้ผู้อ่านได้มีความรู้และสามารถสืบค้นเพิ่มเติมได้อย่างกว้างขวาง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☒ ดีมาก

☐ ดี

2.6 ความเหมาะสมและความถูกต้องในการใช้ภาษา หมายถึง การใช้ภาษาในการเขียนเป็นแบบแผนของภาษาไทย ใช้ศัพท์บัญญัติ ศัพท์ทางเทคนิค รวมทั้งตัวสะกด การันต์ ถูกต้อง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☒ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข (ส่วนใหญ่)
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2.7 การเสนอแนวคิดของตนเอง หมายถึง การสอดแทรกความคิด ความเห็นเพิ่มเติมในตอนต่าง ๆ ของเรื่อง อาจจะเป็นข้อวิพากษ์วิจารณ์ คำสรุป ข้อเสนอแนะ การประยุกต์เนื้อหาสาระต่าง ๆ รวมทั้งแนวคิดและความรู้ใหม่ที่เกิดจากการวิเคราะห์และสังเคราะห์

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2.8 คุณค่าของตำรา หมายถึง ประโยชน์ ความสำคัญและความเชื่อถือได้ ในการที่นำตำรา ไปใช้ประกอบการสอน หรือใช้เพื่อสื่อการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม และใช้อ้างอิง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ผลการประเมิน

1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ
2. ☐ ยังต้องปรับปรุงแก้ไข
3. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

☐ ดีเด่น

☐ ดีมาก

☒ ดี

2.9 ความเห็นอื่น ๆ

[illegible][illegible]

3. สรุปผลการประเมินตำรา

(โดยจะต้องสอดคล้องกับเกณฑ์การประเมินในข้อ 2.1-2.8)

1. ☐ ผ่านเกณฑ์ในระดับ ☐ ดีเด่น ☐ ดีมาก ☒ ดี
2. ☒ ยังต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะและส่งผลงานให้อ่านใหม่อีกครั้ง (ถามถึง) /แก้ไข /แก้ไขใหม่/ส่งน?
3. ☐ ต้องปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะก่อนเผยแพร่ผลงานครั้งใหม่
4. ☐ ไม่ผ่านเกณฑ์

4. สรุปผลประโยชน์ โปรดสรุปผลการประเมินผลงานตำรา และเสนอความคิดเห็นด้วย (โปรดดูตัวอย่าง)

ลงชื่อ..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิฯ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธีรวุฒิ เลิศสุทธิवाल)
29 / 5 / 52