บทที่ 4

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย

4.1 เคมีภัณฑ์

1. ผงเนื้อในเมล็ดมะขาม(TKP) ขนาด 200 mesh(75 ไมโครเมตร) ของบริษัท GM Ichihara.
2. โพลีแซคคาไรด์ของเมล็ดมะขาม(TSP) ของบริษัท GM Ichihara.
3. เอทานอล(ethanol) ความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร ของบริษัทไทยแอลกอฮอล์.
4. กรดซัลฟูริก(sulfuric acid) ของบริษัท Merck, Germany.
5. ฟีนอล(phenol) ของบริษัท Merck, Germany.
6. คอปเปอร์ซัลเฟต(copper sulphate , $CuSO_4.5H_2O$) ของบริษัท Carloerba, Italy.
7. โซเดียมโปแตสเซียมทาร์เทรต(sodium potassium tartrate) ของบริษัท AJAX CHEMICAL, Australia.
8. โซเดียมไฮดรอกไซด์(sodium hydroxide) ของบริษัท Merck, Germany.
9. โซเดียมคาร์บอเนต(sodium carbonate) ของบริษัท AJAX CHEMICAL, Australia.
10. โฟลินซีโอเจนท์(Folin – Ciocalteau reagent) ของบริษัท Merck, Germany.
11. โบวีนซีรัมอัลบูมิน(bovine serum albumin : BSA) ของบริษัท Fluka , Switzerland.
12. ปิโตรเลียมอีเทอร์(petroleum ether) จุดเดือด 40 – 60 องศาเซลเซียส ของบริษัท LAB-SCAN, Ireland.

4.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. อุปกรณ์ชุดกรองชนิดไหลผ่านตัวกรองในถังกวน ประกอบด้วยเครื่องกรองอะคริลิก ตะแกรงสแตนเลสซึ่งเป็นตัวกรอง ขนาด 33 ไมโครเมตรหรือ 400 เมช(mesh) ใบกวนและใบกวาด
2. อุปกรณ์ชุดกรองชนิดไหลขนานตัวกรอง ประกอบด้วยเครื่องกรองอะคริลิก ตัวกรองเซรามิก ขนาดรูพรุน 0.9 ไมโครเมตร ภาชนะบรรจุสารป้อน วาล์วปรับความดันและปั๊มป้อนสาร
3. อุปกรณ์ชุดกรองชนิดไหลขนานตัวกรอง ประกอบด้วยเครื่องกรองอะคริลิก ตะแกรงสแตนเลสซึ่งเป็นตัวกรอง ขนาด 33 ไมโครเมตร ภาชนะบรรจุสารป้อน วาล์วปรับความดันและปั๊มป้อนสาร
4. อุปกรณ์ชุดกรองชนิดไหลขนานตัวกรอง ประกอบด้วยเครื่องกรองอะคริลิก ตะแกรงสแตนเลสซึ่งเป็นตัวกรอง ขนาด 33 ไมโครเมตร ภาชนะบรรจุสารป้อน
5. เครื่องกวนแบบมีแม่เหล็ก(magnetic stirrer / hot plate) รุ่น RCT basic ของบริษัท Ika labortechnik , Germany.
6. เครื่องปั่นเหวี่ยง(centrifuge) รุ่น KUBOTA 5100 ของบริษัท Kubota corporation, Japan.
7. เครื่องกวน(stirrer) รุ่น RW20ZM.n. ของบริษัท Ika labortechnik , Germany.
8. เครื่องล้างอุปกรณ์ด้วยคลื่นเหนือเสียง(ultrasonic bath) รุ่น TRANSSONIC T460 ของบริษัท Elma , West Germany.
9. อ่างควบคุมอุณหภูมิ(water bath) รุ่น Julabo ของบริษัท Labartechnik GMBH, Germany.
10. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง(spectrophotometer) รุ่น Spectronic 20 Genesys ของบริษัท Spectronic Instruments, USA.
11. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง(4-digits balance) ของบริษัท Mettler Toledo, Switzerland.
12. เครื่องวัดขนาดอนุภาค(particle analyzer) รุ่น Coulter LS 230.

13. กล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบส่องกราด(scanning electron microscopy , SEM) ของบริษัท Shimadzu , Japan.

14. กล้องจุลทรรศน์ รุ่น BH - 2 ของบริษัท OLYMPUS , Japan.

15. อุปกรณ์วัดไขมัน(Soxhlet apparatus)

16. เครื่องวัดปริมาณไนโตรเจน(CHNS/O ANALYZER) รุ่น PE2400 SERIES II ของบริษัท PERKIN ELMER , America.

4.3 วิธีการทดลอง

4.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบ ลักษณะของอนุภาค ขนาดอนุภาคของผงเนื้อในเมล็ดมะขาม(TKP) และโพลีแซคคาไรด์ของเมล็ดมะขาม(TSP) ซึ่งเป็นวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ของบริษัท GM Ichihara ตามลำดับ

นำผงเนื้อในเมล็ดมะขามซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในการทดลองโดยได้รับจากบริษัท GM Ichihara และมีชื่อทางการค้าว่า MAKAM 200 มาวิเคราะห์หาปริมาณต่างๆ ดังนี้(วิธีการวิเคราะห์แสดงในหัวข้อ 4.3.5)

1. ปริมาณโพลีแซคคาไรด์ ด้วยวิธีฟีนอล – ซัลฟูริก(phenol – sulfuric method) โดยใช้โพลีแซคคาไรด์ของเมล็ดมะขามซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท GM Ichihara และมีชื่อทางการค้าว่า SOABIGUM หรือ TG 200 เป็นสารมาตรฐานในการคำนวนปริมาณโพลีแซคคาไรด์ในผงเนื้อในเมล็ดมะขาม

2. ปริมาณโปรตีน ด้วย

2.1 วิธีวัดปริมาณไนโตรเจน(N) แล้วนำมาแปรค่าเป็นปริมาณโปรตีนดิบ(crude protein)

2.2 วิธีลาวรี(Lowry 's method) ซึ่งค่าที่วัดได้จะเป็นปริมาณโปรตีนที่แท้จริง(true protein)

3. ปริมาณไขมัน ด้วยวิธี Soxhlet extraction

ทำการวิเคราะห์ TG 200 โดยหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีวัดปริมาณไนโตรเจนแล้วนำมาแปรคาเป็นปริมาณโปรตีนดิบและวิธีลาวรี หาปริมาณไขมันด้วย Soxhlet extraction

วิเคราะห์ขนาดอนุภาคของ MAKAM 200 และ TG 200 ด้วยเครื่องวัดขนาดอนุภาค (particle analyzer) รุ่น Coulter LS 230.

วิเคราะห์ลักษณะและรูปร่างของ MAKAM 200 และ TG 200 โดยการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบส่องกราด(scanning electron microscopy, SEM)

4.3.2 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกอนุภาคโปรตีนออกจากอนุภาคโพลีแซคคาไรด์ของผงเนื้อในเมล็ดมะขาม

เนื่องจากไม่สามารถวัดปริมาณโปรตีนที่แยกออกจากโพลีแซคคาไรด์ของผงเนื้อในเมล็ดมะขามได้โดยตรง ดังนั้นจึงต้องทำการกรองเพื่อแยกอนุภาคโปรตีนให้อยู่ในฟิวเทรตแล้วนำมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่แยกออกจากโพลีแซคคาไรด์ ขั้นตอนการทดลองมีดังนี้

ใส่ผงเนื้อในเมล็ดมะขามซึ่งได้จากบริษัท GM Ichihara ปริมาณ 2 กรัมลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ทำปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรจะได้ความเข้มข้นของผงเนื้อในเมล็ดมะขาม 20 กรัมต่อลิตร กวนให้เข้ากันและเก็บตัวอย่างก่อนการผ่านคลื่นเหนือเสียง จากนั้นนำไปผ่านคลื่นเหนือเสียงในเครื่องล้างอุปกรณ์ด้วยคลื่นเหนือเสียง(ultrasonic bath)เป็นเวลา 60 วินาที กวนให้เข้ากันและทำการเก็บตัวอย่างหลังการผ่านคลื่นเหนือเสียง นำสารละลายที่ได้จากการผ่านคลื่นเหนือเสียงปริมาตร 50 มิลลิลิตร มาทำการกรอง

ด้วยเครื่องกรองโดยมีตะแกรงสแตนเลสขนาด 33 ไมโครเมตรหรือ 400 เมช(mesh) เป็นตัวกรองและมีการกวาดผิวหน้าตัวกรองด้วยแท่งแก้วกวนตลอดเวลา เก็บตัวอย่างและวัดปริมาตรฟิวเทรตที่ได้ จากนั้นทำการชะเค้กที่ได้จากการกรอง(เค้กคือผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ)ด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ปริมาตร 50 มิลลิลิตรโดยยังมีการกวาดผิวหน้าตัวกรองตลอดเวลา เก็บตัวอย่างและวัดปริมาตรฟิวเทรตที่ได้ ทำการชะเค้กซ้ำจนครบ 15 ครั้งด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างและวัดปริมาตรฟิวเทรตที่ได้

วิเคราะห์ตัวอย่างที่ได้ทั้งหมด ดังนี้

1. วิเคราะห์ปริมาณโพลีแซคคาไรด์ โดยวิธีฟีนอล – ซัลฟูริก

2. วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธีลาวรี

3. วิเคราะห์ขนาดอนุภาค โดยใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาค

วิเคราะห์ลักษณะภาคตัดขวางของเค้กที่ได้ โดยการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบส่องกราด(SEM)

ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลและเวลาในการผ่านคลื่นเหนือเสียงต่อการแยกโปรตีน โดยทำการทดลองที่ความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลร้อยละ 0(ทำการกวนในน้ำ ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 ชั่วโมง) 30 50 และ 60 โดยน้ำหนัก เวลาในการผ่านคลื่นเหนือเสียง 30 60 และ 180 วินาที(ความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลร้อยละ 0 จะไม่มีการผ่านคลื่นเหนือเสียง) ความเข้มข้นของผงเนื้อในเมล็ดมะขาม 20 กรัมต่อลิตร

ศึกษาผลของเวลาในการผ่านคลื่นเหนือเสียงต่อการแยกโปรตีน โดยทำการทดลองที่ความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก เวลาในการผ่านคลื่นเหนือเสียง 0(ทำการกวนในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีเป็น

เวลา 1 ชั่วโมง)15 30 45 60 180 และ 300 วินาที ความเข้มข้นของผงเนื้อในเมล็ดมะขาม 20 กรัมต่อลิตร

ศึกษาผลของความเข้มข้นของผงเนื้อในเมล็ดมะขามและเวลาในการผ่านคลื่นเหนือเสียงต่อการแยกโปรตีน โดยทำการทดลองที่ความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก เวลาในการผ่านคลื่นเหนือเสียง 30 60 และ 180 วินาที ความเข้มข้นของผงเนื้อในเมล็ดมะขาม 20 40 และ 60 กรัมต่อลิตร จำนวนครั้งของการชะเค้กด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก คือจำนวน 15 ครั้ง(สำหรับความเข้มข้นของผงเนื้อในเมล็ดมะขาม 20 กรัมต่อลิตร) จำนวน 20 ครั้ง(สำหรับความเข้มข้นของผงเนื้อในเมล็ดมะขาม 40 กรัมต่อลิตร)และจำนวน 25 ครั้ง(สำหรับความเข้มข้นของผงเนื้อในเมล็ดมะขาม 60 กรัมต่อลิตร)

4.3.3 การทดลองการกรองด้วยเครื่องกรองชนิดไหลผ่านตัวกรอง(dead - end filtration)ในถังกวน โดยศึกษาลักษณะการกวนหลายชนิด

ใส่ผงเนื้อในเมล็ดมะขามปริมาณ 2 กรัมลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ทำปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรจะได้ความเข้มข้นของผงเนื้อในเมล็ดมะขาม 20 กรัมต่อลิตร กวนให้เข้ากันและเก็บตัวอย่างก่อนการผ่านคลื่นเหนือเสียง จากนั้นนำไปผ่านคลื่นเหนือเสียงเป็นเวลา 60 วินาที กวนให้เข้ากันและทำการเก็บตัวอย่างหลังการผ่านคลื่นเหนือเสียง นำสารละลายที่ได้จากการผ่านคลื่นเหนือเสียงปริมาณ 50 มิลลิลิตร มาทำการกรองด้วยเครื่องกรองโดยมีตะแกรงสแตนเลสขนาด 33 ไมโครเมตรหรือ 400 เมช เป็นตัวกรองและมีการกวนด้วยใบกวนตลอดเวลา เก็บตัวอย่างและวัดปริมาตรฟิวเทรตที่ได้ตามเวลา ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างตามหัวข้อ 4.3.2

ศึกษาผลของลักษณะการกวนต่อการกำจัดโปรตีนและฟลักซ์ของการกรอง โดยทำการทดลองที่ความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก เวลาในการผ่านคลื่นเหนือเสียง 60 วินาที ความเข้มข้นของผงเนื้อในเมล็ดมะขาม 20 กรัมต่อลิตร

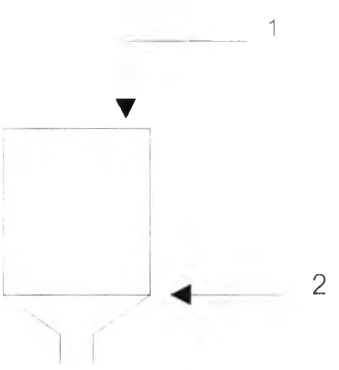
ลักษณะการกวนที่ใช้ในการทดลอง มีดังนี้

1. ไม่ทำการกวน
2. กวนด้วยใบกวน
3. กวนด้วยใบกวาด
4. กวาดผิวหน้าตัวกรองด้วยใบกวาด

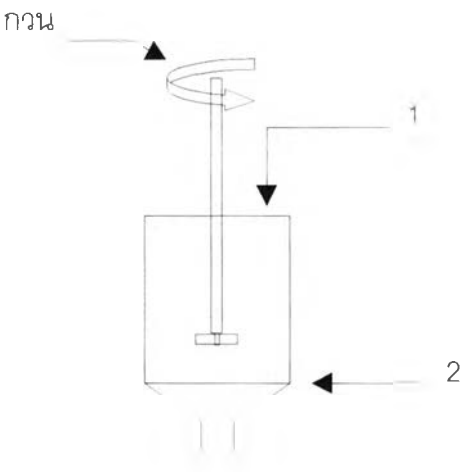
ศึกษาผลของความเข้มข้นของผงเนื้อในเมล็ดมะขามต่อการกำจัดโปรตีนและฟลักซ์ของการกรองโดยกวาดผิวหน้าตัวกรองด้วยใบกวาด ทำการทดลองที่ความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก เวลาในการผ่านคลื่นเหนือเสียง 60 วินาที ความเข้มข้นของผงเนื้อในเมล็ดมะขาม 20 40 และ 60 กรัมต่อลิตร โดยมีการกวาดผิวหน้าตัวกรองด้วยใบกวาดตลอดเวลา แผนภาพอุปกรณ์การกรองชนิดไหลผ่านตัวกรองในถังกวนโดยมีลักษณะการกวนชนิดต่าง ๆ แสดงในรูปที่ 4.1

4.3.4 การทดลองการกรองด้วยเครื่องกรองชนิดไหลผ่านตัวกรอง(dead – end filtration)ในถังกวนโดยกวาดผิวหน้าตัวกรองด้วยใบกวาดและมีการชะเค้กด้วยสารละลายเอทานอล

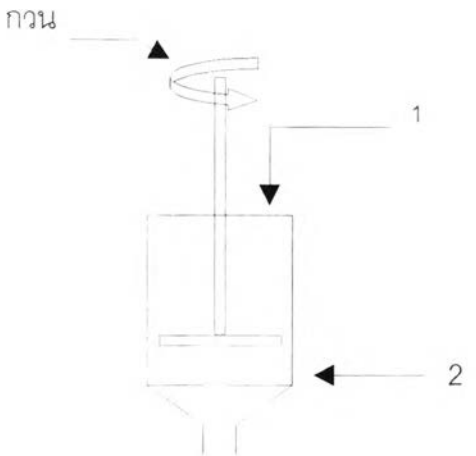
ทำตามขั้นตอนที่ 4.3.2 โดยมีการกวาดผิวหน้าตัวกรองด้วยใบกวาดแทนแท่งแก้วกวน ความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก เวลาในการผ่านคลื่นเหนือเสียง 60 วินาที ความเข้มข้นของผงเนื้อในเมล็ดมะขาม 20 กรัมต่อลิตร แผนภาพอุปกรณ์การกรองชนิดไหลผ่านตัวกรองในถังกวนโดยกวาดผิวหน้าตัวกรองด้วยใบกวาดและมีการชะเค้กด้วยสารละลายเอทานอลแสดงในรูปที่ 4.2



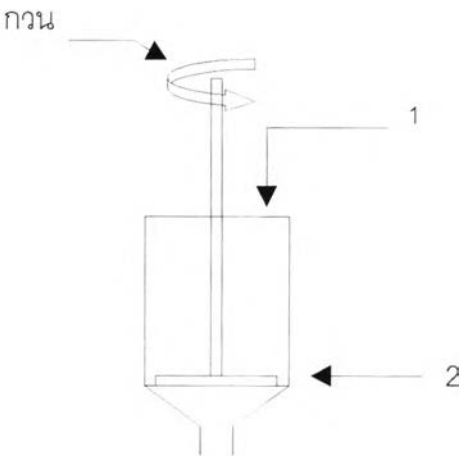
ไม่ทำการกวน



กวนด้วยใบกวน

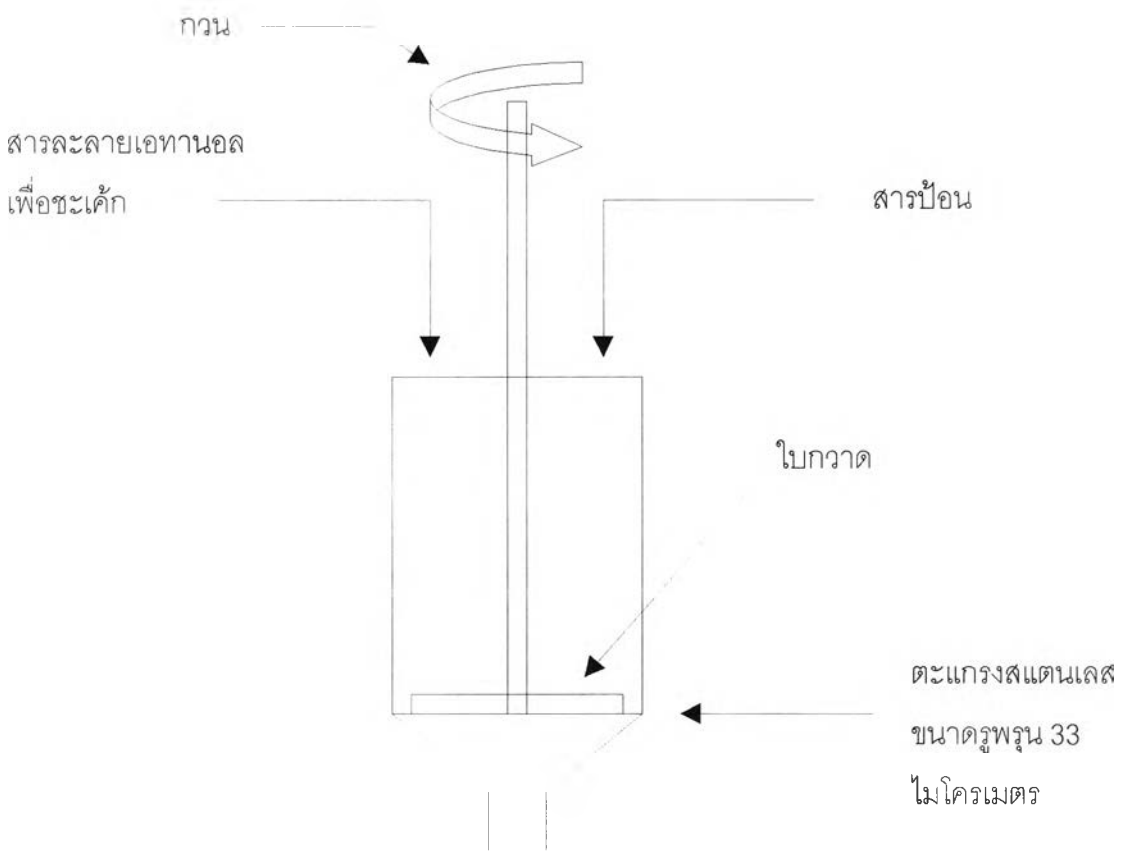


กวนด้วยใบกวาด



กวาดผิวหน้าตัวกรองด้วยใบกวาด

รูปที่ 4.1 แผนภาพอุปกรณ์การกรองชนิดไหลผ่านตัวกรองในถังกวนโดยมีลักษณะการกวนชนิดต่าง ๆ คือไม่ทำการกวน กวนด้วยใบกวน กวนด้วยใบกวาดและกวาดผิวหน้าตัวกรองด้วยใบกวาด โดยที่ 1. สารป้อน 2. ตะแกรงสแตนเลสขนาด 33 ไมโครเมตรหรือ 400 เมช



รูปที่ 4.2 แสดงแผนภาพอุปกรณ์การกรองชนิดไหลผ่านตัวกรองในถังกวนโดยกวาดผิวหน้าตัวกรองด้วยใบกวาดและมีการชะเค้กด้วยสารละลายเอทานอล

4.3.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์สารตัวอย่าง

4.3.5.1 การหาปริมาณโพลีแซคคาไรด์ ตามวิธีฟีนอล – ซัลฟูริก(phenol – sulfuric method) (44)

สารเคมี

1. สารละลายฟีนอลร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

2. กรดซัลฟูริกเข้มข้น

วิธีการวิเคราะห์

1. นำสารตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณโพลีแซคคาไรด์(โดยมีปริมาณโพลีแซคคา-ไรด์อยู่ระหว่าง 10 – 70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)จำนวน 1 มิลลิลิตร มาเติมสารละลายฟีนอลร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรจำนวน 1 มิลลิลิตร และเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นจำนวน 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา

2. แช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 – 20 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยา

3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 483 นาโนเมตร(เป็นช่วงความยาวคลื่นที่ทำให้เกิดการดูดกลืนแสงสูงสุด) โดยใช้สารละลายเอทานอลเป็น blank

4. เตรียมกราฟมาตรฐานโดยใช้โพลีแซคคาไรด์ของเมล็ดมะขามความเข้มข้นระหว่าง 10 – 70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ สารที่เติมในข้อ 1 จะต้องเติมทันที

4.3.5.2 การหาปริมาณโปรตีน ตามวิธีลาวรี(Lawry's method)(45)

สารเคมี

1. สารละลาย A คือร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของคอปเปอร์ซัลเฟต(copper sulphate)
2. สารละลาย B คือร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของโซเดียมโปแตสเซียมทาร์-เทรต(sodium potassium tartrate)
3. สารละลาย C คือ 0.2 โมลาร์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์(sodium hydroxide)
4. สารละลาย D คือร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate)
5. Folin – Ciocalteau reagent

วิธีการวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลาย E โดยผสมสารละลาย C จำนวน 49 มิลลิลิตร กับสารละลาย D จำนวน 49 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย A จำนวน 1 มิลลิลิตร จากนั้นจึงใส่สารละลาย B จำนวน 1 มิลลิลิตร สารละลาย E ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนทำการทดลอง

2. เจือจาง Folin – Ciocalteau reagent ในอัตราส่วน 1 : 1 ด้วยน้ำกลั่นเรียกว่า สารละลาย F

3. ใช้สารตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณโปรตีน(โดยมีค่าโปรตีนไม่เกิน 0.5 มิลลิลิตร) จำนวน 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย E จำนวน 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้นาน 10 นาที

4. ใส่สารละลาย F จำนวน 0.25 มิลลิลิตร ลงไปในหลอดในข้อ 3

5. เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้นาน 30 นาที

6. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายเอทานอลเป็น blank ทำตามขั้นตอน 3 – 6

7. เตรียมกราฟมาตรฐานโดยใช้ BSA ความเข้มข้นระหว่าง 0.05 – 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ สารละลาย A , B , C และ D สามารถเก็บที่อุณหภูมิห้องได้

4.3.5.3 การหาปริมาณโปรตีน ตามวิธี AOAC. 972.43(1995)โดยใช้วิธีวัดปริมาณไนโตรเจนแล้วแปรค่าเป็นปริมาณโปรตีน(46)

ทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง โดยมีเงื่อนไขในการวิเคราะห์ดังนี้

catalyst	ออกไซด์ของ Co W Mn หรือ Ag
สารมาตรฐาน	NIST Acetanilide

ร้อยละโดยน้ำหนักของโปรตีน = ร้อยละโดยน้ำหนักของไนโตรเจน x 6.25

4.3.5.4 การหาปริมาณไขมัน ตามวิธี AOAC. 920.39(1990)โดยใช้วิธี Soxhlet extraction (47)

สารเคมี

ปิโตรเลียมอีเทอร์ จุดเดือด 40 – 60 องศาเซลเซียส

วิธีการวิเคราะห์

1. อบขวดสกัดที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วจึงชั่งน้ำหนักขวดสกัด

2. ชั่งตัวอย่างแห้งน้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม แล้วห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1

3. นำตัวอย่างที่ห่อแล้วไปใส่ใน thimble ซึ่งบรรจุอยู่ใน Soxhlet

4. เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ ซึ่งใช้เป็นตัวสกัด 80 มิลลิลิตร ลงในขวดสกัดที่ทราบน้ำหนักแน่นอน และเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ 70 มิลลิลิตรลงใน Soxhlet

5. สกัดไขมันเป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยให้ความร้อนแก่ปิโตรเลียมอีเทอร์ด้วยเพลทให้ความร้อน

6. เมื่อครบ 3 ชั่วโมง นำสารที่ได้ในขวดสกัดมากลั่นปิโตรเลียมอีเทอร์ออกจากส่วนไขมันที่สกัดได้

7. อบขวดสกัดที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วนำขวดสกัดมาชั่ง

8. ปริมาณไขมันที่สกัดได้คือ ผลต่างของน้ำหนักของขวดสกัดก่อนและหลังการวัดปริมาณไขมัน

4.3.5.5 การหาขนาดอนุภาค

วิธีการใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาค(particle analyzer)

1. เปิดโปรแกรม Coulter ที่เครื่องคอมพิวเตอร์ซึ่งต่อกับเครื่อง particle analyzer
2. เปิดเครื่อง particle analyzer อุ่นเครื่องไว้ประมาณครึ่งชั่วโมง
3. นำเซล(cell) สำหรับวัดขนาดอนุภาคออกมาล้างด้วยน้ำแล้วตามด้วยเอทานอล
4. เติมเอทานอลลงไปในเซลแล้วจึงนำเข้าเครื่องวัดขนาดอนุภาค
5. ที่เครื่องคอมพิวเตอร์ให้กดคำสั่ง run cycle(new sample) ที่ menu bar ของโปรแกรมรอจนกระทั่งหน้าจอแสดงข้อความว่า obscuration 0% Low , Add sample
6. เติมสารตัวอย่างลงในเซลจนกระทั่งเครื่องคอมพิวเตอร์อ่าน obscuration ได้ 8 – 12 % OK แล้วกด Done
7. ใส่ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับตัวอย่างที่ทำการวัดขนาดอนุภาค และเลือก fluid เป็น ethanol กด OK
8. สมการที่ใช้ในการวัดขนาดอนุภาค(model) ให้ใช้เป็น Fraunhaufer Model กด Done รอจนกระทั่งได้ผลของการกระจายตัวของขนาดอนุภาค(particle distribution)