รายการอ้างอิง

1. Bram R.D. Introduction to Instrumental Analysis . 1 St edition. Mc Graw-Hill, Inc., (1987) : 115-158.
2. Brown S. Introduction to Organic Chemistry. 1 St edition. Mc Graw-Hill, Inc., (1989) : 175.
3. Christian G.D. and O' Reilly J.E. Instrumental Analysis . 2 nd edition.Allyn and Bacon,Inc., (1986) : 150-171.
4. Francis A. Carey. Organic Chemistry. 3rd edition. McGraw-Hill, Inc., (1990) : 913.
5. Guilbault G.G. Pratical Fluorescence .1 St edition. Marcel Dekker ,Inc., (1973) 350-359.
6. Haaren J.V.; Broer D. Chemistry and Industry . 3rd edition. McGraw-Hill, Inc., (1998) :1017-1026.
7. Hastings R.J. Solid surface luminescene Analysis . 1 St edition. Marcel Dekker ,Inc., (1981) : 253-257.
8. Passater R.A. Guide to Fluorescence Literature . 1 St edition.Plenum Press New York, (1967) : 211-215.
9. Standen A. Kirk-Othmer : Encyclopedia of Chemical Technology. 3 rd edition. Marcel Dekker ,Inc., (1998): 616-631.
10. Standen A. Kirk-Othmer : Encyclopedia of Chemical Technology. 1 St edition. Marcel Dekker ,Inc., (1968): 483-506.
11. Sakuratani Y.; Watanabe T.and Miyata S. Thin Solid Films . 1st edition. McGraw-Hill, Inc., (2001) :256.
12. Chen ZJ., Yu JS., Tokita M.and Miyata S. Journal of Physics D-applied Physics . 1st edition. McGraw-Hill, Inc., (2000) : 1643.
13. Francis A. Organic Chemistry . 3rd edition. McGraw-Hill, Inc., (1998) :913.
14. สุภาพ บุณยะรัตเวช และเกสร วีรชาโต. ปฏิบัติการเคมีอินทรีย์. 1 St edition สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย., 2536, หน้า 23-24

15. แม้น อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. 1 St edition . ชวนการพิมพ์ .,2535, หน้า 499-545.

16. เรืออากาศเอก ยุทธนา สูงสุมาลย์. การสกัดกรดไลโนเลอิกออกจากดอกคำฝอย .2539, หน้า 7-11

17. โครงการหนังสือเผยแพร่ความรู้ทางการประมง สโมสรนิสิตคณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. การเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว (หลักการและแนวปฏิบัติ). 1 St edition บริษัทประชาชน จำกัด., 2531, หน้า 3-7

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก.
วิธีวิเคราะห์โปรตีน

วิธีวิเคราะห์สมบัติโปรตีน

1. วัตถุประสงค์

เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในอาหาร โดยวิธี Block digestor method

2. ขอบข่าย

2.1 วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในนมและผลิตภัณฑ์ ผัก ผลไม้และผลิตภัณฑ์ ธัญพืชและผลิตภัณฑ์ แป้งและผลิตภัณฑ์ ถั่วและผลิตภัณฑ์ เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ อาหารสัตว์ อาหารทะเลและผลิตภัณฑ์ และเปลี่ยนปริมาณไนโตรเจนให้เป็นปริมาณโปรตีน โดยคูณแฟคเตอร์ของแต่ละชนิดอาหาร

2.2 ย่อยตัวอย่างโดยใช้เครื่องย่อยสาร (digestion unit) และกลั่นตัวอย่างที่ย่อยแล้วด้วยเครื่องกลั่น (distillation unit)

2.3 วิธีทดสอบปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด สถอ. T927 based on AOAC (1995), 991.20 (see 33.2.11)

3. หลักการ

ตัวอย่างจะถูกย่อด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น โดยมีโพแทสเซียมซัลเฟต-ซีลีเนียมเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ไนโตรเจนในโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่างจะเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียมซัลเฟต ดังสมการ

$$R\text{-}NH_2\text{-}COOH + H_2SO_4 \xrightarrow{K_2SO_4, Se} (NH_4)_2SO_4 + CO_2 + SO_2 + H_2O$$

ตัวอย่างที่ถูกย่อยแล้วทำให้เป็นด่าง โดยเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป จะเกิดแก๊สแอมโมเนียขึ้นดังสมการ

$$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH \longrightarrow 2NH_3 + Na_2SO_4 + 2H_2O$$

นำสารละลายตัวอย่างมาทำการกลั่นแก๊สแอมโมเนีย ซึ่งแก๊สแอมโมเนียที่กลั่นได้จะถูกดักจับด้วยกรดบอริก (H_3BO_3) เกิดเป็นแอมโมเนียมบอเรตดังสมการ

$$NH_3 + H_3BO_3 \longrightarrow NH_4H_2BO_3$$

ปริมาณของไนโตรเจนในรูปของเกลือแอมโมเนียมสามารถหาได้โดยนำสารละลายตัวอย่างไปไทเทรตด้วยกรดไฮโดรคลอริก ปริมาณของไนโตรเจนที่ได้เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณโปรตีนที่มีในตัวอย่าง

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 อุปกรณ์

4.1.1 เครื่องกลั่น Buchi 315

เปิดสวิตซ์อุ่นเครื่องประมาณ 10 นาที กลั่นล้างเครื่องด้วยน้ำกลั่น 1 ครั้ง

4.1.2 เครื่องย่อยสาร Buchi 425

เปิดสวิตซ์อุ่นเครื่องประมาณ 7 นาทีโดยหมุนปุ่ม Power control ไปที่หมายเลข 5

4.1.3 เครื่องชั่งความละเอียด 0.0001 กรัม

4.1.4 หลอดกลั่น (distillation vessel) ขนาด 250 มิลลิลิตร

4.1.5 ขวดรูปกรวย (Erlenmeyer flask) ขนาด 125 มิลลิลิตร ขนาด 250 มิลลิลิตร หรือ 300 มิลลิลิตร

4.1.6 บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 1000 มิลลิลิตร ขนาด 500 มิลลิลิตร และขนาด 50 มิลลิลิตร

4.1.7 กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 50 มิลลิลิตร และขนาด 25 มิลลิลิตร

4.1.8 ปิเปตต์ (pipette) ขนาด 10 มิลลิลิตร

4.1.9 บิวเรตต์ (burette) เกรด A ขนาด 25 มิลลิลิตร

4.1.10 ขวดวัดปริมาตร ขนาด 1000 มิลลิลิตร (volumetric flask) เกรด A

4.1.11 แท่งกวนแม่เหล็ก (magnetic stirrer)

4.1.12 เครื่องกวนแม่เหล็ก

4.1.13 กระดาษกรองปราศจากไนโตรเจน (whatman# 541)

4.2 สารเคมี

4.2.3 กรดซัลฟูริกเข้มข้น A.R.grade

4.2.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH, A.R. grade) 400 กรัม ละลายในน้ำกลั่นตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรจนครบ 1 ลิตร สารละลายที่เตรียมมีอายุ 6 เดือน นับจากวันที่เตรียมที่อุณหภูมิห้อง

4.2.5 สารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4เปอร์เซ็นต์

ชั่งกรดบอริก (H_3BO_3,A.R. grade) 40 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นร้อน ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และปรับปริมาตรจนครบ 1 ลิตร ในขวดวัดปริมาตร สารละลายที่เตรียมมีอายุ 6 เดือน นับจากวันที่เตรียมที่อุณหภูมิห้อง

4.2.6 สารละลายอินดิเคเตอร์ผสมเมทิลเรด และเมทิลีนบลู

ชั่งเมทิลเรด (A.R. grade) 0.1 กรัม และเมทิลีนบลู (A.R. grade) 0.050 กรัม ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ (A.R. grade) ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร สารละลายดิเคเตอร์มีอายุ 1 ปี นับจากวันที่เตรียมที่อุณหภูมิห้อง

4.2.7 เมทิลออร์เรนจ์ อินดิเคเตอร์

ชั่งเมทิลออร์เรนจ์ (A.R. grade) 1 กรัม ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร สารละลายดิเคเตอร์มีอายุ 1 ปี นับจากวันที่เตรียมที่อุณหภูมิห้อง

4.2.8 เมทิลเรด อินดิเคเตอร์

ชั่งเมทิลเรด (A.R. grade) 1 กรัม ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร สารละลายดิเคเตอร์มีอายุ 1 ปี นับจากวันที่เตรียมที่อุณหภูมิห้อง

4.2.9 โพแทสเซียมซัลเฟต ซีลีเนียม (special Kjeltabs K_2SO_4=3.5 g ,Se 0.0035 g)

4.2.10 โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3),secondary standard grade

4.2.11 แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) A.R. garde

4.2.12 ซูโครสปราศจากไนโตรเจน A.R. grade

4.2.13 Acetanilide (C_8H_9NO) Lab grade

4.2.14 สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์แมล

5. ภาวะทดสอบ

5.1 อุณหภูมิห้อง

6. วิธีทดสอบ

6.1 การกลั่นตัวอย่าง โดยเครื่องกลั่น Buchi 315

6.1.1 เติมน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร และเติมเมทิลเรด อินดิเคเตอร์ 1 หยด

6.1.2 ใส่กรดบอริกเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 25 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปกรวยขนาด 250 มล. หรือ 300 มล. ตามปริมาณไนโตรเจนที่มีมากน้อยในตัวอย่าง เติมสารละลายอินดิเคเตอร์ผสม 4 หยด เขย่าให้เข้ากัน และวางขวดไว้บนตำแหน่งรับสารละลายที่กลั่นได้ของเครื่องกลั่น

6.1.3 นำหลอดกลั่นใส่ในเครื่องกลั่น เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ จนมีความเป็นด่างเดินพอ (สารละลายเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง)

6.1.4 ทำการกลั่นและเก็บของเหลวที่กลั่นได้ในขวดรูปกรวยที่มีกรดบอริกอยู่ให้ได้ปริมาตรประมาณ 200 มิลลิลิตร

6.1.5 ไทเทรตของเหลวที่กลั่นได้ด้วยสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์แมล ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนจนถึงจุดยุติ (สารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเทา)

6.1.6 ทำแบลงค์โดยใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง และทำการทดสอบเหมือนตัวอย่าง

ตารางที่ ก.1 ปริมาณตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

ประเภทผลิตภัณฑ์	ลักษณะผลิตภัณฑ์			ปริมาณตัวอย่างที่รับ	ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ
	ของแข็ง	ของเหลว	กึ่งแข็งกึ่งเหลว		
1. เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์	✓		✓	500 กรัม	1-2 กรัม
2. อาหารสัตว์	✓		✓	500 กรัม	0.25-1 กรัม
3. อาหารทะเลและผลิตภัณฑ์	✓		✓	500 กรัม	1-2 กรัม
4. นมและผลิตภัณฑ์	✓	✓		500กรัม/500มล.	
-นมผง, น้ำนมสด, นมปรุงแต่ง					1 กรัม/1 มล.
-นมเปรี้ยว					5 มล.
5. ธัญพืช และผลิตภัณฑ์	✓	✓		500กรัม/500มล.	0.7-2.2 กรัม/1-2มล.
6. ถั่วและผลิตภัณฑ์	✓	✓	✓	500กรัม/500มล.	1 กรัม/1มล.
7. แป้งและผลิตภัณฑ์	✓			500 กรัม	1 กรัม
8. ผัก ผลไม้ และผลิตภัณฑ์	✓	✓	✓	500กรัม/500มล.	1กรัม/1-5มล.

หมายเหตุ : กรณีประเภทของผลิตภัณฑ์ที่เป็นกระป๋อง ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ 4กระป๋อง/ 4ออนซ์

6.2 การคำนวณ

6.2.1 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด(ร้อยละ) = $\frac{(V_A - V_B) \times 1.4007 \times N}{W}$

เมื่อ V_A และ V_B = ปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง และแบลงค์ตามลำดับ

N = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (นอร์แมล)

1.4007 = มิลลิกรัมสมมูล (miliequivalent weight) ของไนโตรเจน x100

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

6.2.2 ปริมาณโปรตีน

โปรตีน(ร้อยละ) = ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด x F

เมื่อ F = แฟกเตอร์ที่ใช้คำนวณโปรตีน ซึ่งมีค่าตามชนิดอาหารดังตาราง

ตารางที่ ก.2 แฟกเตอร์ที่ใช้คำนวณโปรตีน (F)

ผลิตภัณฑ์	แฟกเตอร์ที่ใช้คำนวณโปรตีน (F)
1. เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์	6.25
2. อาหารทะเลและผลิตภัณฑ์	6.25
3. ธัญพืช และผลิตภัณฑ์	
- ข้าวสาลีและผลิตภัณฑ์จากแป้งข้าวสาลี	5.70
- เมล็ดธัญพืชชนิดอื่น ๆ	6.25
4. ผัก ผลไม้ และผลิตภัณฑ์	6.25
5. แป้ง และผลิตภัณฑ์	6.25
- แป้งสาลี	5.70
6. นม และผลิตภัณฑ์	6.38
7. ถั่ว และผลิตภัณฑ์	5.46
- อัลมอนด์	5.18
- มะพร้าว	5.30
8. อาหารสัตว์	
- อาหารสัตว์ที่เป็นแป้ง	5.70
- ปลาป่น	6.25
- กากถั่วเหลือง	5.46
- ข้าวโพดป่น	6.25
- อาหารสุนัข, แมว ชนิดเม็ด	6.25

7 อ้างอิง

7.1.1 Cunniff,P. (ed.) 1995. **Official Method of Analysis of AOAC International**. 16 th ed. Maryland : AOAC International. AOAC Office Method 991.20 (see 33.2.11)

7.1.2 สถานที่ทดสอบห้อง 223 ตึกเคมีเทคนิค

ภาคผนวก ข.

วิธีการเตรียมสารละลายไฮโดรคลอริกเข้มข้น

เข้าปิเปตต์กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl, A.R. grade) 9 มิลลิลิตรใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร ซึ่งมีน้ำกลั่นอยู่ประมาณ 500 มล. ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร เขย่าผสมให้กัน เก็บสารละลายในขวดแก้วที่อุณหภูมิห้อง สารละลายที่เตรียมมีอายุ 6 เดือนนับจากวันที่เตรียม

1. การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก (ทำทุก 1เดือน)

1.1 ชั่งสารมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนต 0.15 กรัม (อบแห้งที่อุณหภูมิ 290 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง)

1.2 ละลายในน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร เติมเมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์ 2 หยด

1.3 ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์แมล จนถึงจุดยุติ (สารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีแดง)

1.4 ทำการทดสอบซ้ำอีก 2 ครั้ง และทำแบลงค์ โดยใช้น้ำกลั่นปริมาตร 30 มิลลิลิตร มาทำการไทเทรต

2. การคำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก

ความเข้มข้นที่แน่นอนของกรดไฮโดรคลอริก (N) = $\frac{1000 \times Wt \times 2}{V \times MW.}$

เมื่อ Wt = น้ำหนักของสารมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนตที่ใช้ (กรัม)

V = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรต (มิลลิลิตร)

M.W .= น้ำหนักโมเลกุลของโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) = 105.99

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค.

วิธีการใช้เครื่อง Spectrofluorometer (RF –520)

การเริ่มใช้เครื่องมือ

1.Xenon lamp power supply

1.1 เปิด Power switch 2

1.2 เปิด Stand-by switch 1

1.3 กดปุ่ม Start push - button switch 4

2 Recorder

2.1 เปิด AMP switch 13

2.2 ปรับ Zero control 16 จนกระทั่ง Pen อยู่ที่ 0

2.3 ตั้ง Check / measure selection switch 14 ที่ " measure"

3. RF – 520 Main Body

3.1 เปิด Power switch 5

3.2 ปรับ Zero suppression knob 17 จนกระทั่ง Digital meter และ Recorder อยู่ที่ 0

4. Optical Path matching

ก่อนวัดจะต้องทำ Optical Path Matching ดังนี้

4.1 เติม 1 ppm ของ Quinine suifate (ใช้ 0.1 N H_2SO_4 เป็นตัวทำละลาย) ลงใน Cell แล้วใส่ Cell ลงไปใน Sample cell holder

4.2 Set Recorder Check / measure selection switch 14 ไปที่ "Check" ปรับ Zero control 16 จนกระทั่ง Recorder อยู่ที่ 50

4.3 Set Recorder Sensitivity selection switch 15 ไปที่ X-1 และ GAIN selection switch บน main body ไปที่ 1

4.4 Set Shutter control 11 ไปที่ "close" และ Recorder Check / measure selection switch 14 ไปที่ "Measure"

4.5 ปรับ Zero suppression knob 17 บน main body จนกระทั่ง Recorder อยู่ที่ 50

4.6 Set Excitation wavelength 23 ที่ 350 nm และ Excitation bandwidth 24 ที่ 10 nm

4.7 Set Emission wavelength 26 ที่ 450 และ Emission bandwidth 27 ที่ 10 nm

4.8 Set – HV mode lever 6 ที่ "Auto Mode"

4.9 ใช้ไขควงหมุน Sample side attenuator 31 และ Reference side attenuator 31' ไขทางทวนเข็มนาฬิกาจนสุด โดยผ่านทางช่อง 21 และ 21'

4.10 Set Shutter control 11 ไปที่ "Open"

4.11 ปรับ Auto sensitivity control 10 จนกระทั่ง อยู่ที่ 90

4.12 ปิด Shutter control 11

4.13 เติม 1 ppm Quinine sulfate ลงใน cell แล้วใส่ cell ลงไปใน Reference cell holder ปิด Sample Compartment เปิด Shutter

4.14 ถ้า Recorder อ่านได้น้อยกว่า 50 ให้ปรับ Reference side attenuation ตามเข็มนาฬิกาจนกระทั่งได้ 50 โดยผ่านทางช่อง 21' ถ้า Recorder มากกว่า 50 ปรับ Sample side attenuator ตามเข็มนาฬิกาโดยผ่านทางช่อง 21 จนกระทั่ง 50

5. Quantitative Analysis (with unknow excitation and emission wavelengths)

5.1 ทำ Optical Path Matching

5.2 เติม Solvent ลงใน cell แล้วใส่ลงใน Reference cell holder

5.3 เติม Unknown sample ลงใน cell แล้วใส่ลงใน Sample cell holder ปิด sample compartment

5.4 Set Excitation wavelength 23 ที่ 300 nm

5.5 Set Excitation bandwidth 24 และ Emission bandwidth 27 ที่ 10 nm

5.6 Set GAIN 8 x 100

5.7 Set –HV mode lever 6 ที่ "AUTO"

5.8 ปิด Shutter 11 ปรับ Zero suppression knob 17 จนกระทั่ง Recorder = 50 แล้วปรับ Zero control 16 ให้ Recorder = 0

5.9 เปิด Shutter และ Set AUTO sensitivity control 10 ที่ 8

5.10 Set Response selection switch 12 ที่ "M"

5.11 ตั้ง Emission Wavelength 26 ที่ 600 nm หมุนเปลี่ยน Wavelength ให้ลดลงอย่างช้าๆ แล้วสังเกตดูว่า Wavelength ใดที่ทำให้ค่า Fluorescence Intensity บน Digital meter สูงที่สุด (Fluorescence Peak) แล้วตั้ง Emission Wavelength ไว้ที่ Wavelength นั้น

5.12 หมุน Excitation Wavelength 23 ที่ 600 จาก Wavelength ของ Fluorescence Peak ลดลงอย่างช้าๆ เพื่อหา Wavelength ที่ทำให้ Digital meter สูงสุด (Excitation Peak)

5.13 ที่ Recorder ตั้ง Chart speed selection switch 45 ที่ 20 nm/min กด Pen up switch 13' ลง Set Chart cluth 45" ที่ "on" Set pen ให้ตรงกับเส้นบน Chart

5.14 Set Excitation Wavelength ไว้ใกล้ๆกับ Wavelength ของ Fluorescence peak และ Set Scan Speed Selection switch 18 ไว้ที่ 100 nm/min Set Scan lever 9 ที่ "Ex" จะได้ Excitation Spectrum

5.15 Set Excitation Wavelength ที่ Excitation peak และ Set Emission Wavelength ไว้ Wavelength ที่ยาวกว่า Fluorescence peak Set Scan lever 9 ที่ "Em" จะได้ Emission Spectrum

<u>หมายเหตุ</u> ถ้า Set speed 100 nm/min Chart speed 20nm/min จะได้ 1 cm = 50 nm Speed ทั้งสองเปลี่ยนแปลงได้ตามเหมาะสม

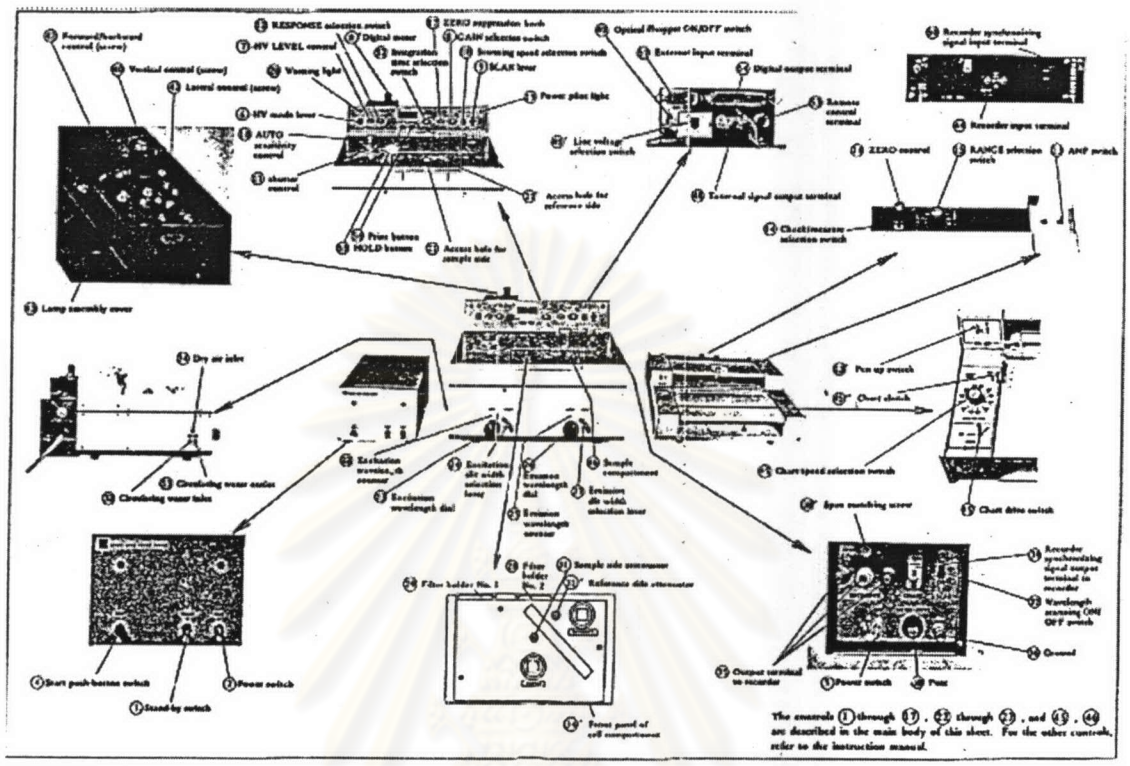
<u>วิธีปิดเครื่อง</u>

1. ปรับ -HV mode lever 6 มาที่ "MANUAL' ปิด Stand by switch 1 ทิ้งไว้ประมาณ 10-15 นาที เพื่อ cool lamp แล้วจึงปิด power switch 2

2. เมื่อปิด Power switch 2 แล้วทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที จึงปิด Main body power switch 5

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>รูปแสดง ค.1</u> ส่วนประกอบเครื่อง Spectrofluorometer (RF –520)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง.

ตารางที่ ง.1 ผลทดสอบการวัดด้วยเครื่อง uv-spectrometer

ชื่อสาร	ที่ อัตราส่วน 1:5 เป็นเวลา 1 วัน		ที่ อัตราส่วน 1:5 เป็นเวลา 1.5 วัน	
	ค่า λ_{max}	ค่า Abs	ค่า λ_{max}	ค่า Abs
เมทานอล	345	0.85	350	0.83
คลอโรฟอร์ม	393	0.91	395	0.87
THF	400	0.70	410	0.69
DMF	375	0.65	370	0.63
ชื่อสาร	ที่ อัตราส่วน 1:5 เป็นเวลา 2 วัน		ที่ อัตราส่วน 1:5 เป็นเวลา 7 วัน	
	ค่า λ_{max}	ค่า Abs	ค่า λ_{max}	ค่า Abs
เมทานอล	358	0.79	355	0.78
คลอโรฟอร์ม	390	0.88	375	0.85
THF	380	0.69	390	0.65
DMF	360	0.59	365	0.58

ตารางที่ ง.2 ผลทดสอบการวัดด้วยเครื่อง uv-spectrometer ที่อัตราส่วนต่างๆ

ชื่อสาร	ที่ อัตราส่วน 1:20 เป็นเวลา 1.5วัน		ที่ อัตราส่วน 1:30 เป็นเวลา 1.5 วัน	
	ค่า λ_{max}	ค่า Abs	ค่า λ_{max}	ค่า Abs
เมทานอล	345	0.76	332	0.75
คลอโรฟอร์ม	400	0.83	380	0.81
THF	405	0.63	390	0.61
DMF	370	0.57	375	0.55

ภาคผนวก จ.
ผลการวัดปริมาณโปรตีน

ตารางที่ จ.1 ผลการสกัดสารที่อัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย 1:5 โดยปริมาตร (เกล็ดปลา 50 กรัม ต่อ ตัวทำละลาย 250 มิลลิลิตร) ณ อุณหภูมิจุดเดือดตัวทำละลาย และ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

ชนิดของตัวทำละลาย	ปริมาณสารที่สกัดได้ (กรัม)	Yield (%)	Average	ปริมาณโปรตีน (กรัม)	ร้อยละน้ำหนักสารต่อสารละลายที่เพิ่มขึ้น
เมทานอล ณ จุดเดือด	0.39	0.78	0.76	0.0004	0.0002
	0.37	0.74			
คลอโรฟอร์ม ณ จุดเดือด	0.71	1.42	1.44	0.0001	0.0001
	0.73	1.46			
THF ณ จุดเดือด	0.60	1.20	1.22	0.0001	0.00005
	0.62	1.24			
DMF ณ 70 $^{\circ}$C	1.52	3.04	2.83	0.1027	0.0411
	1.31	2.62			
เมธานอล ณ อุณหภูมิห้อง	0.18	0.36	0.35	0.0004	0.0002
	0.2	0.4			
	0.15	0.30			
คลอโรฟอร์ม ณ อุณหภูมิห้อง	0.74	1.48	1.59	0.0006	0.0002
	0.80	1.60			
	0.85	1.70			
THF ณ อุณหภูมิห้อง	0.81	1.62	1.09	0.0086	0.0034
	0.46	0.92			
	0.36	0.72			
DMF ณ อุณหภูมิห้อง	0.69	1.38	1.35	0.0475	0.0190
	0.63	1.26			
	0.70	1.40			

ตารางที่ จ.2 แสดงความสัมพันธ์ผลของร้อยละผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสกัดเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย 1: 5 โดยปริมาตร ณ จุดเดือดของตัวทำละลายแต่ละชนิด ที่ เวลา 1 และ 7 วัน

ระยะเวลาการสกัด (วัน)	ชนิดของตัวทำละลาย	ปริมาณสารที่สกัดได้ (กรัม)	Yield (%)	Average	ปริมาณโปรตีน (กรัม)	ร้อยละน้ำหนักสารต่อสารละลายที่เพิ่มขึ้น
1.5	เมทานอล	0.11	0.22	0.26	0.0005	0.0002
		0.15	0.30			
		0.13	0.26			
1.5	คลอโรฟอร์ม	0.43	0.86	0.89	0.0008	0.0003
		0.40	0.80			
		0.50	1.00			
1.5	THF	0.27	0.54	0.49	0.0057	0.0023
		0.22	0.44			
		0.25	0.50			
1.5	DMF	0.93	1.86	2.08	0.0947	0.0379
		1.02	2.04			
		1.17	2.34			
7	เมทานอล	0.39	0.78	0.76	0.0004	0.0002
		0.37	0.74			
7	คลอโรฟอร์ม	0.71	1.42	1.44	0.0001	0.0001
		0.73	1.46			
7	THF	0.60	1.20	1.22	0.0001	0.00005
		0.62	1.24			
7	DMF	1.52	3.04	2.83	0.1027	0.0411
		1.31	2.62			

ตารางที่จ.3 ดำเนินการสกัดที่จุดเดือดของตัวทำละลายที่อัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย คือ 1:5 , 1:10 , 1:20 และ 1: 30 โดยปริมาตร ตามลำดับที่ระยะเวลา 1.5 วัน (ยกเว้นตัวทำละลาย DMF ใช้อุณหภูมิประมาณ 60-70 องศาเซลเซียส)

อัตราส่วนเกล็ดต่อตัวทำละลาย	ชนิดของตัวทำละลาย	ปริมาณสารที่สกัดได้ (กรัม)	Yield (%)	Average	ปริมาณโปรตีน (กรัม)	ร้อยละน้ำหนักสารต่อสารละลายที่เพิ่มขึ้น
1:5	เมทานอล	0.11	0.22	0.26	0.0005	0.0002
		0.15	0.3			
		0.13	0.26			
1:10	เมทานอล	0.17	0.34	0.35	0.0009	0.0002
		0.18	0.36			
1:20	เมทานอล	0.55	1.1	1.03	0.0022	0.0002
		0.48	0.96			
1:30	เมทานอล	0.56	1.12	1.05	0.0024	0.0002
		0.49	0.98			
1:5	คลอโรฟอร์ม	0.43	0.86	0.89	0.0008	0.0003
		0.4	0.8			
		0.5	1			
1:10	คลอโรฟอร์ม	0.51	1.02	1.04	0.0013	0.0003
		0.53	1.06			
1:20	คลอโรฟอร์ม	0.56	1.12	1.04	0.0016	0.0005
		0.48	0.96			
1:30	คลอโรฟอร์ม	1.11	2.22	2.26	0.0012	0.0005
		1.15	2.3			

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อัตราส่วนเกล็ดต่อตัวทำละลาย	ชนิดของตัวทำละลาย	ปริมาณสารที่สกัดได้ (กรัม)	Yield (%)	Average	ปริมาณโปรตีน (กรัม)	ร้อยละน้ำหนักสารต่อสารละลายที่เพิ่มขึ้น
1:5	THF	0.27	0.54	0.49	0.0057	0.0023
		0.22	0.44			
		0.25	0.5			
1:10	THF	0.3	0.6	0.59	0.0071	0.0014
		0.29	0.58			
1:20	THF	0.95	1.9	1.93	0.0231	0.0023
		0.98	1.9			
1:30	THF	0.96	1.92	1.93	0.0233	0.0016
		0.97	1.94			
1:5	DMF	0.93	1.86	2.08	0.0947	0.0379
		1.02	2.04			
		1.17	2.34			
1:10	DMF	1.31	2.62	2.6	0.1235	0.0247
		1.29	2.58			
1:20	DMF	2.89	5.78	6.34	0.3424	0.0342
		3.45	6.9			
1:30	DMF	2.88	5.76	6.31	0.3467	0.0231
		3.43	6.86			

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ฉ.
ผลการวัดร้อยละโปรตีน

ตารางที่ ฉ.1 แสดงร้อยละปริมาณโปรตีนที่อยู่ในผลิตภัณฑ์ที่สกัดได้อัตราส่วน เกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย 1: 5 โดยปริมาตร ที่เวลา 1 , 1.5 , 2 และ 7 วัน โดยวิธีการทดสอบแบบ The Kjeldahl Method

เวลา	ร้อยละโปรตีนที่สกัด			
	ตัวทำละลาย			
	เมทานอล	คลอโรฟอร์ม	THF	DMF
1 วัน	0.33	0.15	2.11	8.85
1.5 วัน	0.39	0.18	2.33	9.11
2 วัน	0.27	0.13	2.07	8.55
7 วัน	0.11	0.02	0.02	7.26

ตารางที่ ฉ.2 แสดงร้อยละปริมาณโปรตีนที่อยู่ในผลิตภัณฑ์ที่สกัดได้ที่อัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย 1: 5 ,1:10 ,1:20 ,1:30 โดยปริมาตร ตามลำดับโดยวิธีการทดสอบแบบ The Kjeldahl Method

ตัวทำละลาย อัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย	ร้อยละโปรตีนที่สกัดได้			
	เมทานอล	คลอโรฟอร์ม	THF	DMF
1:5	0.39	0.18	2.33	9.11
1:10	0.49	0.25	2.41	9.5
1:20	0.43	0.21	2.39	10.04
1:30	0.45	0.22	2.41	10.99

ภาคผนวก ช

การคำนวณปริมาณสารที่สกัดได้และปริมาณโปรตีนที่สกัดจากเกล็ดปลากระพง

1. ปริมาณสารสกัดจากเกล็ดปลา (มิลลิกรัม/กรัมเกล็ดปลา)

ปริมาณเกล็ดปลาเริ่มต้น		50	กรัม
น้ำหนักของสารที่สกัดได้		x	กรัม
ปริมาณสารที่สกัดได้	(x/50)*1000 =	y	มิลลิกรัม/กรัมเกล็ดปลา

ดังนั้นปริมาณสารสกัดจากเกล็ดปลา y มิลลิกรัม/กรัมเกล็ดปลา

2. ปริมาณโปรตีนที่สกัดจากเกล็ดปลา (มิลลิกรัม/กรัมเกล็ดปลา)

ปริมาณเกล็ดปลาเริ่มต้น		50	กรัม
น้ำหนักของสารที่สกัดได้		x	กรัม
ร้อยละโปรตีนในสารสกัดจากการวิเคราะห์		f	ร้อยละ
ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้	(x/50)*1000*f =	z	มิลลิกรัม/กรัมเกล็ดปลา

ดังนั้นปริมาณโปรตีนที่สกัดจากเกล็ดปลา z มิลลิกรัม/กรัมเกล็ดปลา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายประดิษฐ์ ปราโมทย์ธนา เกิดเมื่อวันที่ 20 ตุลาคม 2520 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมีเทคนิค จากคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในปีการศึกษา 2542 และเข้าศึกษาต่อ ในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยเมื่อ พ.ศ. 2542

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย