# บทที่ 4

# ผลและอภิปรายผลงานวิจัย

จากการดำเนินการทดลองในห้องปฏิบัติการตามที่ได้กล่าวมาแล้วในบทที่3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทดลองได้นำเสนอในรูปแบบของตารางและกราฟ ตามลำดับดังนี้

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาหาภาวะการสกัดสารเรืองแสงที่ดีที่สุดโดยศึกษาตัวแปร อุณหภูมิ ระยะเวลา อัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย และชนิดของตัวทำละลาย โดยชนิดของตัวทำละลาย และ ช่วงของตัวแปรที่ศึกษามีดังนี้

- ชนิดของตัวทำละลาย ได้แก่ เมทานอล เตตระไฮโดรฟูแรน คลอโรฟอร์ม และไดเมทิลฟอร์มาไมด์
- อุณหภูมิ (60-70 องศาเซลเซียส)
- เวลา (1 , 1.5 , 2 และ 7 วัน)
- อัตราส่วนของเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย ( 1:5 , 1:10 , 1: 20 และ 1:30 )

## 4.1 สมบัติของวัตถุดิบ

### 4.1.1 ลักษณะของเกล็ดปลา

เกล็ดปลากระพงขาวมีลักษณะเกล็ดสีขาวแผ่นใหญ่ขนาดประมาณ 1X1 ตารางเซนติเมตร ดังรูปที่ 4.1(A) และเมื่อผ่านการบดคัดขนาด จะมีลักษณะเป็นผงสีขาว ดังรูปที่ 4.1(B)

(A) (B)

รูปที่ 4.1 ลักษณะของเกล็ดปลากระพงขาวก่อนการบดตัด(A)
ลักษณะของเกล็ดปลากระพงขาวหลังการบดตัด(B)

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเกล็ดปลาโดยวิธี The Kjeldahl Method พบว่ามีโปรตีน 300 มิลลิกรัม/กรัม ของเกล็ดปลาที่ยังไม่ได้ถูกสารละลายสกัด

## 4.2 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณสารที่สกัด

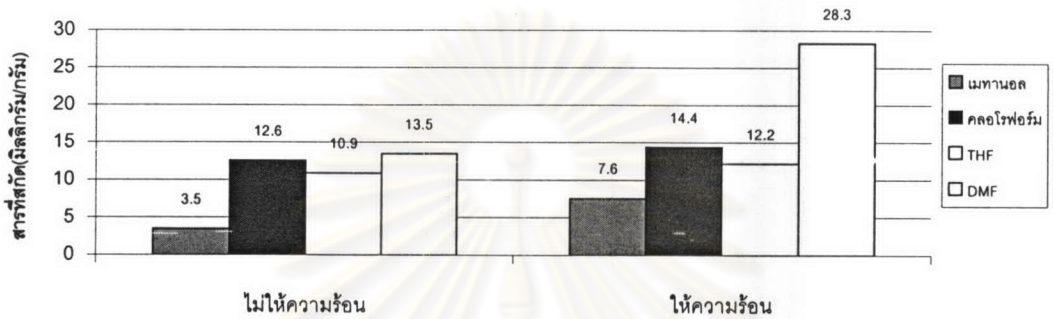
การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อปริมาณสารที่สกัด เริ่มจากผสมเกล็ดปลาบดละเอียด 50 กรัม กับสารละลาย เมทานอล (จุดเดือด 65 °C) 250 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดก้นกลม และกวนให้เข้ากันเป็นเวลา 7 วัน โดยสกัดที่อุณหภูมิที่จุดเดือดของตัวทำละลาย นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มากรองเพื่อนำสารที่ได้ออกมา ทำการทดลองเช่นเดียวกัน แต่เปลี่ยนชนิดของตัวทำละลายที่ใช้เป็น คลอโรฟอร์ม (จุดเดือด 61 °C) THF (จุดเดือด 66 °C) DMF (จุดเดือด 153 °C) ตามลำดับ เฉพาะตัวทำละลาย DMF ใช้อุณหภูมิสกัดที่ 60-70 องศาเซลเซียส ( เพราะสารเรืองแสงที่คาดว่าจะประกอบด้วยโปรตีนจะถูกทำลายที่ อุณหภูมิสูงกว่า 70 °C) ต่อจากนั้นกรองและเอาตัวทำละลายออกโดยผ่านเครื่องระเหยแบบหมุน เพื่อหาปริมาณน้ำหนักของผลิตภัณฑ์ และทำการดังกล่าวข้างต้นแต่เปลี่ยนอุณหภูมิที่ใช้สกัดเป็นอุณหภูมิห้อง ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการสกัดแสดงไว้ในตารางที่ 4.1 และ รูปที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 ผลการสกัดสารที่อัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย 1:5 โดยปริมาตร ( เกล็ดปลา 50 กรัม ต่อ ตัวทำละลาย 250 มิลลิลิตร ) ณ อุณหภูมิจุดเดือดตัวทำละลาย และ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

| ชนิดของตัวทำละลาย | สารสกัดได้ มิลลิกรัม/กรัม | | โปรตีน มิลลิกรัม/กรัม | | ร้อยละปริมาณโปรตีน/สารที่สกัดได้ | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | อุณหภูมิห้อง | อุณหภูมิจุดเดือด | อุณหภูมิห้อง | อุณหภูมิจุดเดือด | อุณหภูมิห้อง | อุณหภูมิจุดเดือด |
| เมทานอล | 3.5 | 7.6 | 0.0004 | 0.008 | 0.01 | 0.11 |
| คลอโรฟอร์ม | 12.6 | 14.4 | 0.0088 | 0.003 | 0.07 | 0.02 |
| THF | 10.9 | 12.2 | 0.1716 | 0.002 | 1.57 | 0.02 |
| DMF | 13.5 | 28.3 | 0.9898 | 2.055 | 7.33 | 7.26 |

จากตารางที่ 4.1 และ รูปที่ 4.2 พบว่าเมื่อให้ความร้อนตัวทำละลายในการสกัดเกล็ดปลาจะให้สารสกัดได้ สูงกว่าการสกัดที่ไม่ให้ความร้อนตัวทำละลาย เมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนเริ่มต้น 300 มิลลิกรัม/กรัมเกล็ดปลา จะพบว่าสารที่สกัดได้มีปริมาณน้อยกว่า 10- 40 เท่าแสดงว่าโปรตีนที่อยู่ในเกล็ดปลาไม่สามารถถูกสกัดออกมาได้หมดด้วยตัวทำละลายที่ใช้อยู่ และ เมื่อเทียบโปรตีน

ที่มีอยู่ในสารที่สกัดได้ จะพบว่ามีค่าน้อยลงอีกกล่าวคือ สารละลายเมทานอลอุณหภูมิห้อง สารที่สกัดได้ 3.5 มิลลิกรัม/กรัม มีโปรตีนเพียง 0.004 มิลลิกรัม/กรัม ในขณะที่ DMF ให้ค่าสูงสุด คือ 0.9898 มิลลิกรัม/กรัม ในสารที่สกัดได้ 13.5 มิลลิกรัม/กรัม




รูปที่ 4.2 ผลการสกัดสารที่อัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย 1:5 โดยปริมาตร (เกล็ดปลา 50 กรัม ต่อตัวทำละลาย 250 มิลลิลิตร) ณอุณหภูมิจุดเดือดตัวทำละลาย และอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

และจากรูปที่ 4.2 แสดงให้เห็นถึงปริมาณสารที่สกัดได้พบว่าตัวทำละลายที่ ใช้สกัดที่จุดเดือดของตัวทำละลายด้วย DMF , คลโรฟอร์ม , THF และ เมทานอล จะให้ปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้นมากกว่ากรณีไม่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิห้องคิดเป็นร้อยละ 109.7 , 14.3 , 11.9 และ 117.1 ตามลำดับ แสดงว่าการสกัดสารในเกล็ดปลาขณะให้ความร้อนที่จุดเดือดของตัวทำละลายจะทำให้สารถูกสกัดออกมาได้ง่ายด้วยสาเหตุที่ความร้อนทำให้เซลของเกล็ดปลาขยายตัว ในตัวทำละลาย ขณะเดียวกันสารนั้นก็สามารถแพร่ออกมาจากเซลที่ขยายตัวได้ง่าย และเมื่อวิเคราะห์อัตราส่วนร้อยละปริมาณโปรตีน/สารที่สกัดได้ในเมทานอล ณ อุณหภูมิจุดเดือดของตัวทำละลายมีค่า 0.11 และ อุณหภูมิห้องของตัวทำละลายมีค่า 0.01 ทั้ง 2 อัตราส่วนมีค่าไม่เท่ากัน แสดงว่าปริมาณโปรตีนที่หายไปถูกทำลายไปด้วยความร้อนที่ใช้ในการสกัด เช่นเดียวกับตัวทำละลาย คลอโรฟอร์ม , THF ส่วนตัวทำละลายใน DMF อัตราส่วนนี้มีค่าใกล้เคียงกันคือ 7.33 ที่อุณหภูมิห้อง และ 7.86 ที่อุณหภูมิ 60 - 70 °C แสดงว่าอุณหภูมิไม่มีผลต่อการสกัด โปรตีนที่หายไปบางส่วนควรจะเกิดจากการทำลายของตัวทำละลาย

## 4.3 ผลของเวลาที่ใช้ในการสกัด

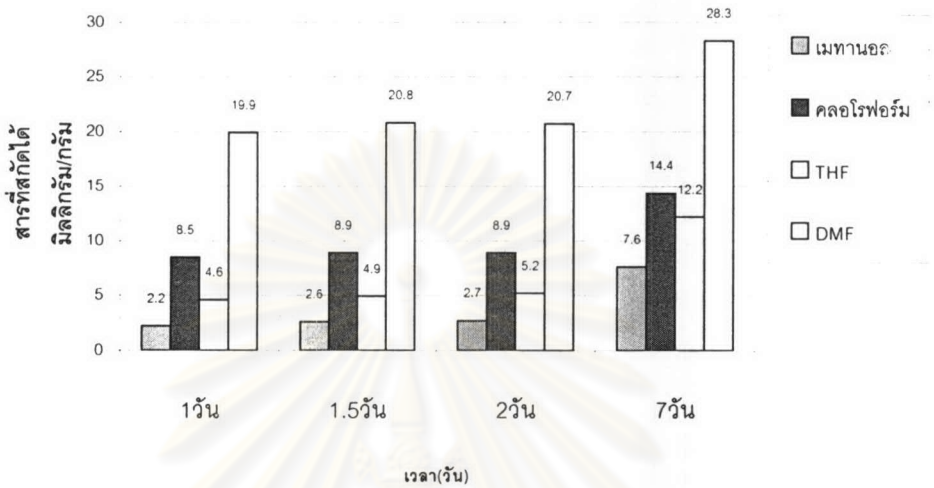
การศึกษาผลของเวลาต่อปริมาณสารที่สกัด เริ่มจากผสมเกล็ดปลาบดละเอียด 50 กรัมกับตัวทำละลาย เมทานอล 250 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดก้นกลม และกวนให้เข้ากัน เป็นเวลา 1 ,1.5 , 2 และ 7 วัน โดยสกัดที่อุณหภูมิที่จุดเดือดของตัวทำละลาย นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มากรองเพื่อนำสารที่ได้ออกมาทำการทดลองเช่นเดียวกัน แต่เปลี่ยนชนิดของตัวทำละลายที่ใช้เป็นคลอโรฟอร์ม, THF, DMF ตามลำดับ ต่อจากนั้นกรองและนำตัวทำละลายออกโดยผ่านเครื่องระเหยแบบหมุน เพื่อหาปริมาณน้ำหนักของผลิตภัณฑ์ หลังจากนั้นทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของเวลาที่มีต่อการสกัด แสดงดังตารางที่ 4.2 และ รูปที่ 4. 3

ตารางที่ 4.2 สารที่สกัดได้และปริมาณโปรตีนจากการสกัดเกล็ดปลา ต่อตัวทำละลาย 1: 5 โดยปริมาตร โดยสกัดที่จุดเดือดของตัวทำละลายแต่ละชนิด ณ เวลา 1 , 1.5 , 2 และ 7 วัน

| ชนิดของตัวทำละลาย | ระยะเวลาการสกัด 1 วัน | | ระยะเวลาการสกัด 1.5 วัน | | ระยะเวลาการสกัด 2 วัน | | ระยะเวลาการสกัด 7 วัน | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | สารที่สกัดได้ มิลลิกรัม/กรัม | ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม/กรัม) ณ จุดเดือดของตัวทำละลาย | สารที่สกัดได้ มิลลิกรัม/กรัม | ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม/กรัม) ณ จุดเดือดของตัวทำละลาย | สารที่สกัดได้ มิลลิกรัม/กรัม | ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม/กรัม) ณ จุดเดือดของตัวทำละลาย | สารที่สกัดได้ มิลลิกรัม/กรัม | ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม/กรัม) ณ จุดเดือดของตัวทำละลาย |
| เมทานอล | 2.2 | 0.007 | 2.6 | 0.010 | 2.7 | 0.007 | 7.6 | 0.011 |
| คลอโรฟอร์ม | 8.5 | 0.013 | 8.9 | 0.016 | 8.9 | 0.012 | 14.4 | 0.020 |
| THF | 4.6 | 0.098 | 4.9 | 0.115 | 5.2 | 0.108 | 12.2 | 0.155 |
| DMF | 19.9 | 1.759 | 20.8 | 1.895 | 20.7 | 1.770 | 28.3 | 2.055 |

จากตารางที่ 4.2 เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดเพิ่มขึ้นจาก 1.5 วัน เป็น 7 วันตัวทำละลาย DMF มีสารที่สกัดได้เพิ่มขึ้นจาก 20.8 มิลลิกรัม/กรัม เป็น 28.3 มิลลิกรัม/กรัม ซึ่งให้ค่าสูงสุด ตัวทำละลายอื่นๆก็มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 4.3

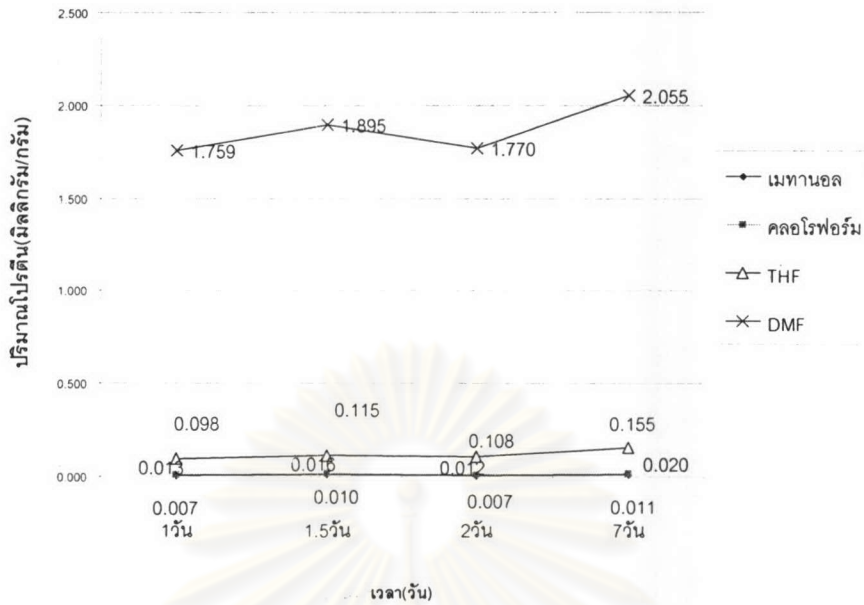
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




รูปที่ 4.3 ผลของปริมาณสารที่สกัดได้จากการสกัดเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย 1:5 โดยปริมาตร โดยสกัดที่จุดเดือดของตัวทำละลายแต่ละชนิด ณ เวลา 1, 1.5, 2 และ 7 วัน

จากรูปที่ 4.3 เมื่อเทียบปริมาณสารที่สกัดได้เมื่อเวลาเพิ่มจาก 1 วัน เป็น 7 วัน โดยใช้อัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย พบว่าถ้าใช้ 1:5 โดยปริมาตร DMF เพิ่มขึ้นร้อยละ 42.2 คลอโรฟอร์ม เพิ่มร้อยละ 69.5 THF เพิ่มร้อยละ 165.2 และเมทานอล เพิ่มขึ้นร้อยละ 245.5 และพบว่าที่เวลาในการสกัดมากขึ้นการสกัดจะง่ายขึ้นด้วย เนื่องจากสารที่สกัดได้สันนิษฐานว่าเป็นสารที่มีส่วนประกอบของโปรตีน แต่เมื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่สกัด ณ จุดเดือดของตัวทำละลาย ที่อัตราส่วนที่เท่ากัน แต่เวลาที่ใช้ในการสกัดต่างกัน

จากตารางที่ 4.2 พบว่าเมื่อระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดสารที่เวลา 1 , 1.5, 2 และ 7 วัน ปริมาณโปรตีน ณ จุดเดือดของตัวทำละลาย จะมีค่าเพิ่มขึ้นทุกชนิดของตัวทำละลาย DMF เพิ่มขึ้นร้อยละ 16.8 THF เพิ่มขึ้นร้อยละ 258.2 คลอโรฟอร์ม เพิ่มขึ้นร้อยละ 53.8 และเมทานอล เพิ่มขึ้นร้อยละ 57.1 ดังรูปที่ 4.4




รูปที่ 4.4 ปริมาณโปรตีนที่อัตราส่วน 1:5 โดยปริมาตร เกล็ดปลา 50 กรัม ต่อ ตัวทำละลาย 250 มิลลิลิตร ที่เวลาต่างๆ โดยสกัดที่จุดเดือดของตัวทำละลายแต่ละชนิด ณ เวลา 1, 1.5, 2 และ 7 วัน

จากรูปที่ 4.4 พบว่าปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ทุกตัวทำละลายที่เวลาในการสกัด 7 วัน ให้ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้มากที่สุด และตัวทำละลายที่ให้ค่ามากที่สุดคือ DMF ให้ปริมาณโปรตีน 2.055 มิลลิกรัม/กรัม แต่ปริมาณจำนวนนี้ไม่ต่างจากการใช้เวลาที่ 1, 1.5 และ 2 วัน การให้ระยะเวลาการสกัดที่นานควรจะให้การสกัดโปรตีนที่สูง แต่ที่ไม่สูงมากอาจเนื่องจาก เมื่อโปรตีนที่สกัดได้มากแต่ต้องสัมผัสกับความร้อนเวลานานจึงเกิดการสลายตัวสอดคล้องกับการได้ สารที่สกัดได้สูงขึ้นใน 7 วันของสารละลาย DMF เท่ากับ 28.3 มิลลิกรัม/กรัม และ ที่เวลา 1.5 วัน ได้ 20.8 มิลลิกรัม/กรัม ในขณะโปรตีนที่สกัดได้ 2.055 มิลลิกรัม/กรัม และ 1.895 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ ความร้อนจะไปทำลายโปรตีนที่มี อีกทั้งการสกัดที่เวลา 7 วัน จะให้ปริมาณโปรตีนที่มากกว่า แต่จะต้องใช้พลังงานมากในการสกัดจึงเป็นการสิ้น เปลืองพลังงานเพราะฉะนั้นระยะเวลาที่เหมาะสมคือ ที่เวลา 1.5 วัน ตัวทำละลายที่ให้โปรตีนมากไปน้อยคือ DMF(1.895 มิลลิกรัม/กรัม) THF (0.115 มิลลิกรัม/กรัม) คลอโรฟอร์ม (0.016 มิลลิกรัม/กรัม) และเมทานอล (0.01 มิลลิกรัม/กรัม) ตามลำดับ

## 4.4 ผลของอัตราส่วนของเกล็ดปลาต่อปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

การศึกษาผลของอัตราส่วนของเกล็ดปลาต่อปริมาณตัวทำละลาย เริ่มจากผสมเกล็ดปลาบดละเอียด 10 กรัมกับตัวละลาย เมทานอล 50, 100, 200 และ 300 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดก้นกลม และกวนให้เข้ากันเป็นเวลา 1.5 วัน โดยสกัดที่อุณหภูมิที่จุดเดือดของตัวทำละลาย นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มากรองเพื่อนำสารที่ได้ออกมาทำการทดลองเช่นเดียวกัน แต่เปลี่ยนชนิดของตัวทำละลายที่ใช้เป็นคลอโรฟอร์ม THF และ DMF ตามลำดับ ต่อจากนั้นกรองและนำตัวทำละลายออกโดยผ่านเครื่องระเหยแบบหมุน เพื่อหาปริมาณน้ำหนักของผลิตภัณฑ์ต่อการสกัด ต่อจากนั้นทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของอัตราส่วนที่มีต่อการสกัดแสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่4.3 ดำเนินการสกัดที่จุดเดือดของตัวทำละลายที่อัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลายคือ 1:5, 1:10, 1:20 และ 1: 30 โดยปริมาตร ตามลำดับ ที่ระยะเวลา 1.5 วัน (ยกเว้นตัวทำละลาย DMF ใช้อุณหภูมิประมาณ 60-70 องศาเซลเซียส)

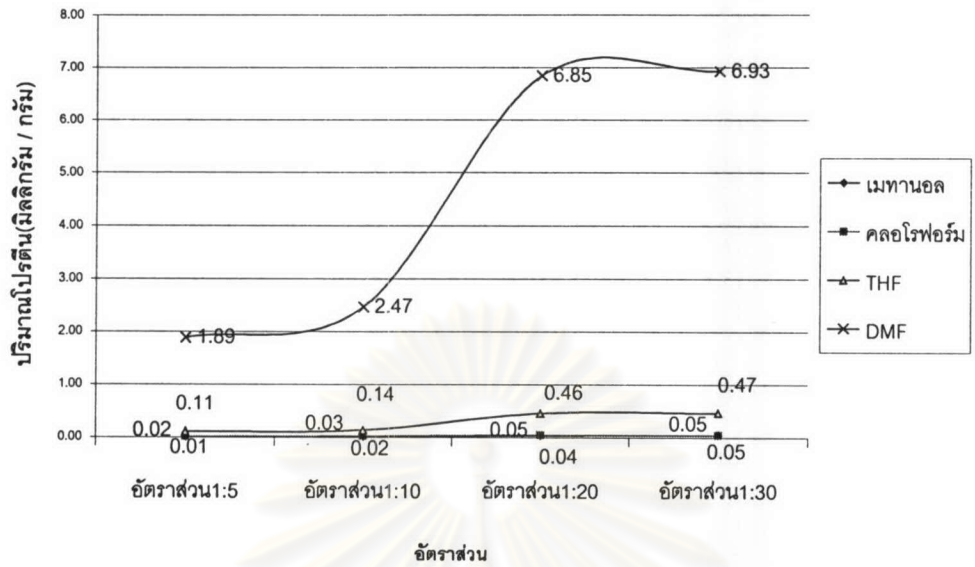
| ชนิดของตัวทำละลาย | อัตราส่วน | สารที่สกัดได้ มิลลิกรัม/กรัม | ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม/กรัม) ณ จุดเดือดของตัวทำละลาย |
|---|---|---|---|
| เมทานอล | 1:5 | 2.60 | 0.01 |
| | 1:10 | 3.50 | 0.02 |
| | 1:20 | 10.30 | 0.04 |
| | 1:30 | 10.50 | 0.05 |
| คลอโรฟอร์ม | 1:5 | 8.87 | 0.02 |
| | 1:10 | 10.40 | 0.03 |
| | 1:20 | 20.40 | 0.05 |
| | 1:30 | 22.60 | 0.05 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

| ชนิดของตัวทำละลาย | อัตราส่วน | สารที่สกัดได้ มิลลิกรัม/กรัม | ปริมาณโปรตีน(มิลลิกรัม/กรัม) ณ จุดเดือดของตัวทำละลาย |
|---|---|---|---|
| THF | 1:5 | 4.93 | 0.11 |
| | 1:10 | 5.90 | 0.14 |
| | 1:20 | 19.30 | 0.46 |
| | 1:30 | 19.30 | 0.47 |
| DMF | 1:5 | 20.80 | 1.89 |
| | 1:10 | 26.00 | 2.47 |
| | 1:20 | 63.40 | 6.85 |
| | 1:30 | 63.10 | 6.93 |

จากตารางที่ 4.3 พบว่าเมื่ออัตราส่วนตัวทำละลายเพิ่มขึ้น ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ ณ จุดเดือดของตัวทำละลายจะเพิ่มขึ้นด้วย จากอัตราส่วน 1: 5 เป็น 1: 30 ตัวทำละลายเมทานอล เพิ่มขึ้น 4 เท่า, คลอโรฟอร์ม 1.5 เท่า, THF 3.3 เท่า และ DMF 2.7 เท่า ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.5

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




รูปที่ 4.5 ปริมาณโปรตีนกับอัตราส่วนของเกล็ดปลาต่อตัวทำละลายที่อัตราส่วนต่างๆโดยปริมาตร ที่เวลา 1.5 วัน ณ จุดเดือดของตัวทำละลาย (ยกเว้นตัวทำละลาย DMF ใช้อุณหภูมิประมาณ 60-70 องศาเซลเซียส)

จากรูปที่ 4.5 เมื่อเพิ่มปริมาณตัวทำละลาย พบว่าที่อัตราส่วน 1:30 จะให้ค่าปริมาณโปรตีนของตัวทำละลาย DMF 6.93 มิลลิกรัม/กรัม, คลอโรฟอร์ม 0.05 มิลลิกรัม/กรัม, THF 0.47 มิลลิกรัม/กรัม และ เมทานอล 0.049 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาปริมาณที่อัตราส่วน 1:20 พบว่าจะให้ค่าปริมาณโปรตีนที่ได้ จากตัวทำละลาย DMF 6.85 มิลลิกรัม/กรัม , คลอโรฟอร์ม 0.05 มิลลิกรัม/กรัม, THF 0.46 มิลลิกรัม/กรัม และเมทานอล 0.01 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ แสดงว่าปริมาณโปรตีนที่ได้มีค่าที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้นอัตราส่วนที่ 1:20 ให้การสกัดที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากเมื่อเพิ่มปริมาณตัวทำละลายขึ้น แต่ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย อีกทั้งการใช้ตัวทำละลายปริมาณมากในการสกัดจะต้องใช้พลังงานมากในการให้ความร้อน ที่อุณหภูมิ ณ จุดเดือดของตัวทำละลาย และการระเหยตัวทำละลายออกมา

## 4.5 การเปรียบเทียบเครื่องมือสกัด

การศึกษาผลการเปรียบเทียบเครื่องมือที่สกัด เริ่มจากผสมเกล็ดปลาบดละเอียด 10 กรัมกับสารละลาย (DMF จุดเดือด 153 °C) 200 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Soxhlet ทำการสกัดเป็นเวลา 1.5 วัน โดยสกัดที่อุณหภูมิที่จุดเดือดของตัวทำละลาย นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มา กรองเพื่อนำสารที่ได้ออกมา และเอาตัวทำละลายออกโดยผ่านเครื่องระเหยแบบหมุน เพื่อหาปริมาณน้ำหนักของผลิตภัณฑ์ต่อการสกัด ต่อจากนั้นทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของเครื่องมือที่สกัด แสดงดังตารางที่ 4.4

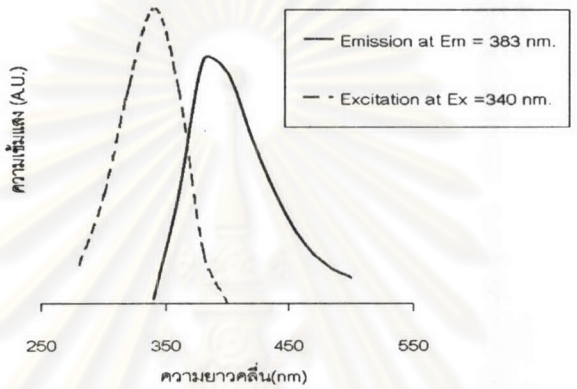
ตารางที่4.4 ดำเนินการสกัดด้วย Soxhlet ที่จุดเดือดของตัวทำละลายที่อัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลายคือ 1:20 โดยปริมาตรตามลำดับ ที่ระยะเวลา 1.5 วัน (ยกเว้นตัวทำละลาย DMF ใช้อุณหภูมิประมาณ 60 - 70 องศาเซลเซียส)

| ชนิดของตัวทำละลาย | อัตราส่วน | Soxhlet | | ใบพัดกวน | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | สารที่สกัดได้ มิลลิกรัม/กรัม | ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม/กรัม) ณ จุดเดือดของตัวทำละลาย | สารที่สกัดได้ มิลลิกรัม/กรัม | ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม/กรัม) ณ อุณหภูมิ 60 – 70 °C |
| DMF | 1:20 | 61.12 | 6.71 | 63.10 | 6.93 |

การศึกษาการเปรียบเทียบเครื่องมือสกัดระหว่าง Soxhlet และใบพัดกวนขณะสกัดในขวดก้นกลม) จากตารางที่ 4.4 พบว่าเมื่อใช้ Soxhlet ในการสกัดที่อัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย 1:20 โดยปริมาตร ที่เวลา 1.5 วัน ใช้ตัวทำละลาย DMF ที่อุณหภูมิประมาณ 60-70 องศาเซลเซียส (เลือกทำเฉพาะตัวทำละลาย DMF เพราะให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด) เปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบใบพัดกวนขณะสกัดในขวดก้นกลม พบว่าปริมาณที่สกัดด้วย Soxhlet ได้ปริมาณสารสกัด 61.12 มิลลิกรัม/กรัมเกล็ดปลา และวิธีการสกัดแบบใบพัดกวนขณะสกัดในขวดก้นกลมได้ปริมาณสารสกัด 63.10 มิลลิกรัม/กรัมเกล็ดปลา จะเห็นว่าปริมาณสารสกัดทั้ง 2 วิธีให้ค่าใกล้เคียงกัน แต่เหตุที่เลือกใบพัดกวน เพราะช่วยตีให้เกล็ดปลาผสมกับตัวทำละลาย และทำให้สารที่อยู่ในเกล็ดปลาออกมาได้รวดเร็วกว่า เนื่องจากมีการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายที่รุนแรง

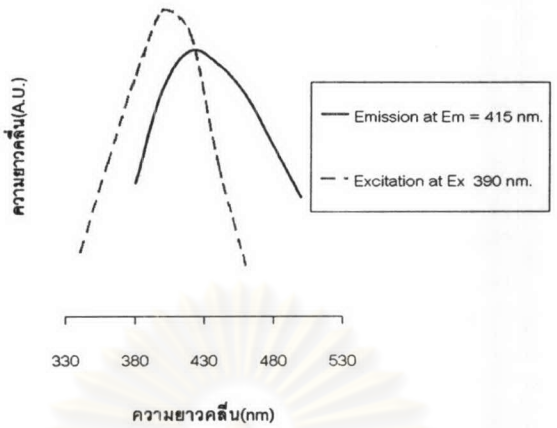
## 4.6 ผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrofluorometer R-520

นำสารที่สกัดจากเกล็ดปลากระพงขาว ที่สกัดที่อัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย 1: 20 โดยปริมาตร ณ จุดเดือดของตัวทำละลาย ที่เวลา 1.5 วันไปวัดความเข้มแสงจากเครื่อง Spectrofluorometer ที่ความยาวคลื่นต่างๆแสดงดังรูป 4.6 ถึง 4.9



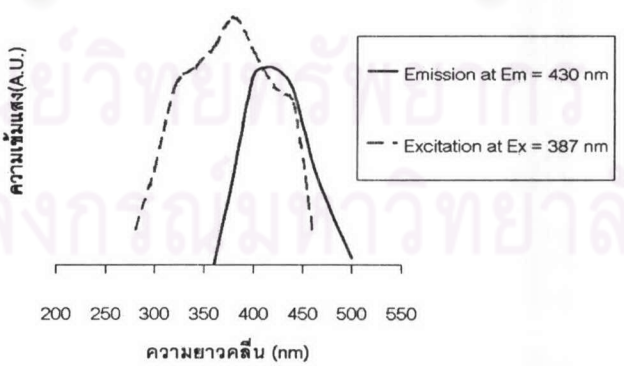

รูปที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงกับช่วงความยาวคลื่นแสงที่ใช้ในการกระตุ้นและที่ปล่อยออกมาของสารเรืองแสงที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล ที่อัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย 1: 20 โดยปริมาตร ณ จุดเดือดของตัวทำละลาย ที่เวลา 1.5 วัน

รูปที่4.6 เส้นประแสดงช่วงความยาวคลื่นของแสงที่ใช้กระตุ้นสารเรืองแสงที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล ที่จุดสูงสุดของพีค มีค่าความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร อยู่ในช่วงความยาวคลื่นแสงอัลตราไวโอเลต เส้นทึบแสดงช่วงความยาวคลื่นแสงที่ปล่อยออกมาจากสารเรืองแสงที่สกัดได้ ที่จุดสูงสุดของพีคมีค่าความยาวคลื่น 383 นาโนเมตร ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นแสงสีเหลืองแกมเขียว



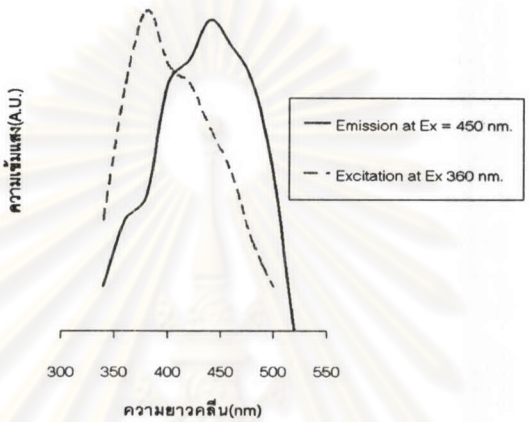

<u>รูปที่ 4.7</u> ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงกับช่วงความยาวคลื่นแสงที่ใช้ในการกระตุ้นและที่ปล่อยออกมาของสารเรืองแสงที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม ที่อัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย 1:20 โดยปริมาตร ณ จุดเดือดของตัวทำละลาย ที่เวลา 1.5 วัน

รูปที่ 4.7 เส้นประแสดงช่วงความยาวคลื่นแสงที่ใช้กระตุ้นสารเรืองแสงที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม ซึ่งจุดสูงสุดของพีค มีค่าความยาวคลื่น 390 นาโนเมตร และในช่วงความยาวคลื่นนี้อยู่ในช่วงความยาวคลื่นแสงสีม่วง เส้นทึบแสดงช่วงความยาวคลื่นแสงที่ปล่อยออกมาจากสารเรืองแสงที่สกัดได้พบว่า ที่จุดสูงสุดของพีค มีค่าความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร และในช่วงความยาวคลื่นนี้อยู่ช่วงความยาวคลื่นแสงสีเหลืองแกมเขียว




<u>รูปที่ 4.8</u> ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงกับช่วงความยาวคลื่นแสงที่ใช้ในการกระตุ้นและที่ปล่อยออกมาของสารเรืองแสงที่สกัดด้วยตัวทำละลาย THF ที่อัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย 1: 20 โดยปริมาตร ณ จุดเดือดของตัวทำละลาย ที่เวลา 1.5 วัน

รูปที่ 4.8 เส้นประแสดงช่วงความยาวคลื่นแสงที่ใช้กระตุ้นของสารเรืองแสงที่สกัดจากตัวทำละลาย THF ค่าสูงสุดของพีค มีค่าความยาวคลื่น 387 นาโนเมตร ค่าดังกล่าวนี้อยู่ในช่วงความยาวคลื่นแสงสีม่วง เส้นทึบแสดงช่วงความยาวคลื่นแสงที่ปล่อยออกมาของสารเรืองแสงที่สกัดได้ ค่าสูงสุดของพีค มีค่าความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร ค่าดังกล่าวนี้อยู่ในช่วงความยาวคลื่นแสงสีเหลืองแกมเขียว

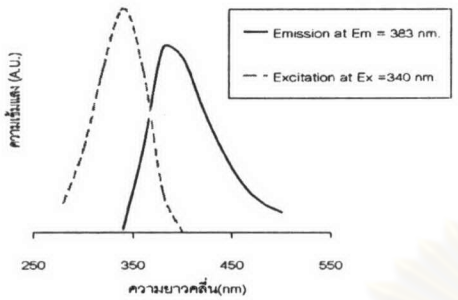



<u>รูปที่ 4.9</u> ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงกับช่วงความยาวคลื่นแสงที่ใช้ในการกระตุ้นและที่ปล่อยออกมาของสารเรืองแสงที่สกัดด้วยตัวทำละลาย DMF ที่อัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย 1: 20 โดยปริมาตร ณ จุดเดือดของตัวทำละลาย ที่เวลา 1.5 วัน

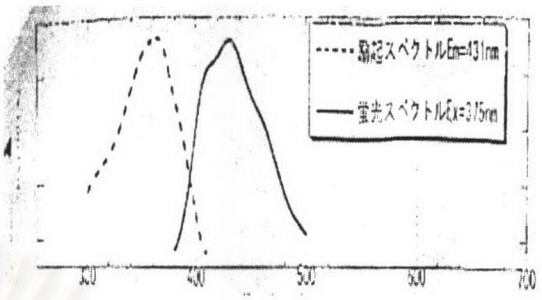
รูปที่ 4.9 เส้นประแสดงช่วงความยาวคลื่นแสงที่ใช้กระตุ้นของสารเรืองแสงที่สกัดด้วยตัวทำละลาย DMF ณ จุดสูงสุดของพีค มีค่าความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร ซึ่งค่านี้อยู่ในช่วงความยาวคลื่นแสงอัลตราไวโอเลต เส้นทึบแสดงช่วงความยาวคลื่นแสงที่ปล่อยออกมาจากสารเรืองแสงที่สกัดได้ ณ จุดสูงสุดของพีค มีความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ซึ่งค่านี้อยู่ในช่วงความยาวคลื่นแสงสีเหลือง

จากรูปที่ 4.6 ถึง 4.9 การสกัดสารด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน พบว่าจะให้ช่วงความยาวคลื่นของแสงที่ปล่อยมาแตกต่างกัน คือ เมทานอล (ที่จุดสูงสุดของพีคมีค่าความยาวคลื่น 383 นาโนเมตร) คลอโรฟอร์ม (ที่จุดสูงสุดของพีคมีค่าความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร) THF (ที่จุดสูงสุดของพีคมีค่าความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร) DMF (ที่จุดสูงสุดของพีคมีค่าความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร) ดังนั้นสารเรืองแสงที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกันจะให้สีที่แตกต่างกัน และมีสารเรืองมากกว่า 1 ชนิดอยู่ในเกล็ดปลา

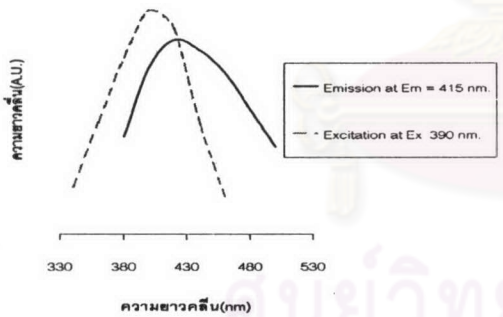
## 4.7 การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrofluorometer ในงานวิจัยของ Prof. Miyata และ งานวิจัยนี้



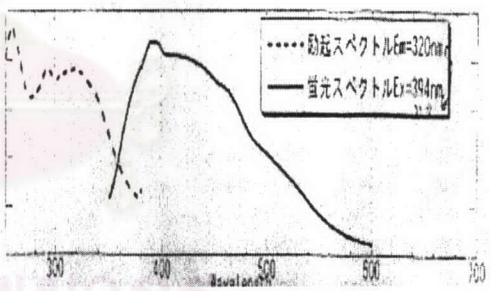

รูปที่ 4.10 ความเข้มแสงและความยาวคลื่น
ในตัวทำละลายเมทานอล (งานวิจัยนี้)
ที่ภาวะ 1.5 วัน ที่อัตราส่วน 1: 20
โดยปริมาตร ณ จุดเดือดตัวทำละลาย



รูปที่ 4.11 ความเข้มแสงและความยาวคลื่น
ในตัวทำละลายเมทานอล(Prof.Miyata)
ที่ภาวะ 3-4 วัน ที่อัตราส่วน 1: 200
โดยปริมาตร ณ จุดเดือดตัวทำละลาย

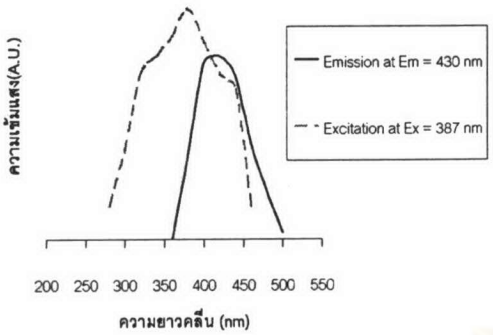



รูปที่ 4.12 ความเข้มแสงและความยาวคลื่น
ในตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม (งานวิจัยนี้)
ที่ภาวะ 1.5 วัน ที่อัตราส่วน 1: 20
โดยปริมาตร ณ จุดเดือดตัวทำละลาย

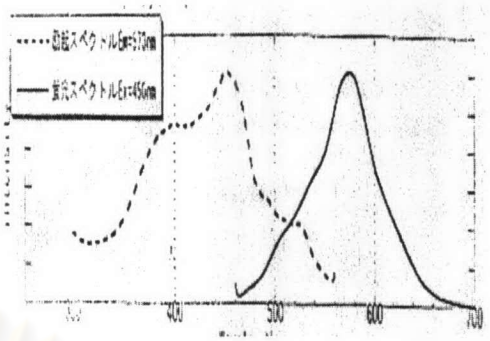


รูปที่ 4.13 ความเข้มแสงและความยาวคลื่น
ในตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม(Prof.Miyata)
ที่ภาวะ 3-4 วัน ที่อัตราส่วน 1: 200
โดยปริมาตร ณ จุดเดือดตัวทำละลาย

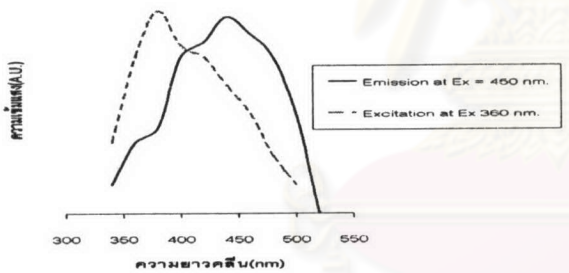
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



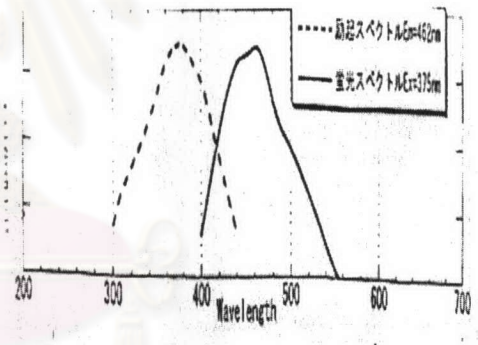

รูปที่ 4.14 ความเข้มแสงและความยาวคลื่น
ในตัวทำละลาย THF (งานวิจัยนี้)
ที่ภาวะ 1.5 วัน ที่อัตราส่วน 1: 20
โดยปริมาตร ณ จุดเดือดตัวทำละลาย



รูปที่ 4.15 ความเข้มแสงและความยาวคลื่น
ในตัวทำละลาย THF (Prof.Miyata)
ที่ภาวะ 3-4 วัน ที่อัตราส่วน 1: 200
โดยปริมาตร ณ จุดเดือดตัวทำละลาย




รูปที่ 4.16 ความเข้มแสงและความยาวคลื่น
ในตัวทำละลาย DMF (งานวิจัยนี้)
ที่ภาวะ 1.5 วัน ที่อัตราส่วน 1: 20
โดยปริมาตร ณ จุดเดือดตัวทำละลาย




รูปที่ 4.17 ความเข้มแสงและความยาวคลื่น
ในตัวทำละลาย DMF (Prof.Miyata)
ที่ภาวะ 3-4 วัน ที่อัตราส่วน 1: 200
โดยปริมาตร ณ จุดเดือดตัวทำละลาย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่4.5 การเปรียบเทียบงานวิจัยของ Prof.Miyata และ งานวิจัยนี้

| ชนิดของตัวทำละลาย | ตัวแปรที่ศึกษา | งานวิจัยนี้ | | Prof.Miyata | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | ช่วงการกระตุ้น (นาโนเมตร) | ช่วงที่ปล่อยออกมา (นาโนเมตร) | ช่วงการกระตุ้น (นาโนเมตร) | ช่วงที่ปล่อยออกม่า (นาโนเมตร) |
| เมทานอล | ช่วงความยาวคลื่นที่จุดสูงสุด | 340 | 383 | 375 | 431 |
| | ช่วงความยาวคลื่นแสง | อัลตราไวโอเลต | สีเหลืองแกมเขียว | อัลตราไวโอเลต | สีเหลืองแกมเขียว |
| คลอโรฟอร์ม | ช่วงความยาวคลื่นที่จุดสูงสุด | 390 | 415 | 320 | 394 |
| | ช่วงความยาวคลื่นแสง | สีม่วง | สีเหลืองแกมเขียว | อัลตราไวโอเลต | สีเหลืองแกมเขียว |
| THF | ช่วงความยาวคลื่นที่จุดสูงสุด | 387 | 430 | 450 | 573 |
| | ช่วงความยาวคลื่นแสง | สีม่วง | สีเหลืองแกมเขียว | สีน้ำเงิน | สีม่วง |
| DMF | ช่วงความยาวคลื่นที่จุดสูงสุด | 360 | 450 | 375 | 462 |
| | ช่วงความยาวคลื่นแสง | อัลตราไวโอเลต | สีเหลือง | อัลตราไวโอเลต | สีเหลือง |

จากรูปที่ 4.10 ถึง 4.17 แสดงการเปรียบเทียบ งานวิจัยของ Prof.Miyata และ งานวิจัยนี้ พบว่าสารเรืองแสงที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเดียวกันจะให้ช่วงความยาวคลื่นแสงที่ปล่อยออกมาแตกต่างกัน เพราะจากการใช้ช่วงความยาวคลื่นแสงที่แตกต่างกันในการกระตุ้น ทั้งนี้เนื่องจากใช้ภาวะการสกัดสารที่ต่างกัน คือ งานวิจัยของProf.Miyataทำการทดลองที่ระยะเวลาในการสกัด 3-4 วัน และอัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย 1: 200 โดยปริมาตร ในขณะที่งานวิจัยนี้ทำการทดลองที่ระยะเวลาในการสกัด 1.5 วัน และอัตราส่วนเกล็ดปลาต่อตัวทำละลาย 1: 20 โดยปริมาตร ดังนั้นองค์ประกอบของสารเรืองแสงที่สกัดได้จากเกล็ดปลามีหลายชนิดจึงไม่เหมือนกัน แต่แตกต่างกันไม่มากนักเมื่อเทียบกับผลของชนิดตัวทำละลาย ดังเช่น ตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม ช่วงความยาวคลื่นแสงที่ใช้กระตุ้นงานของProf.Miyata คือช่วงความยาวคลื่นแสงอัลตราไวโอเลต และงานวิจัยนี้อยู่ในช่วงความยาวคลื่นแสงสีม่วง ช่วงความยาวคลื่นแสงที่ปล่อยออกมาเป็นช่วงความยาวคลื่นเดียวกันคือ สีเหลืองแกมเขียว