การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการหาปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้าง โดยวิธีเจล์ดาห์ลและไบยูเรต

ประสิทธิ์ มานะพิมพ์

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
พ.ศ. 2549

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

STUDIES COMPARISION FOR PROTEIN IN ASIAN FOREST SCORPION BY KJELDAHL AND BIURET METHODS

PRASITH MANAPIM

AN INDEPENDENT STUDY SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
MAJOR IN SCIENCE EDUCATION
FACULTY OF SCIENCES
UBONRAJATHANEE UNIVERSITY
YEAR 2006

COPYRIGHT OF UBONRAJATHANEE UNIVERSITY

ใบรับรองการค้นคว้าอิสระ

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา คณะวิทยาสตร์

เรื่อง การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการหาปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้างโดยวิธีเจล์ดาห์ลและไบยูเรต

ผู้วิจัย นายประสิทธิ์ มานะพิมพ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.โชติ จิตรังษี)

.....กรรมการ

(ดร.สายสมร ลำลอง)

..... กรรมการ

(ดร.สุดาพร ตังควนิช)

..... คณบดี

(ดร.จันทร์เพ็ญ อินทรประเสริฐ)

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี รับรองแล้ว

.....

(ศาสตราจารย์ ดร.ประกอบ วิโรจนกูฏ)

อธิการบดี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ปีการศึกษา 2549

กิตติกรรมประกาศ

การค้นคว้าอิสระนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความร่วมมือจากหลายๆท่าน ผู้ทำการวิจัยขอขอบพระคุณ รศ. ดร.โชติ จิตรังษี และ ดร.สายสมร ลำลอง อาจารย์ที่ปรึกษาการค้นคว้าอิสระซึ่งคอยช่วยเหลือให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการดำเนินงานการค้นคว้าอิสระนี้ ตลอดจนการจัดทำและตรวจแก้การค้นคว้าอิสระให้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณคณาอาจารย์โดยเฉพาะ ผศ.วรรณวไล อธิวาสน์พงศ์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี และ ผศ.ดร.วินิช พรมอารักษ์ หัวหน้าภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้คำปรึกษาในการค้นคว้าอิสระนี้ให้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ดร.สุดาพร ตังควนิช หัวหน้าโปรแกรมเคมีมหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ที่ได้ถ่ายทอดความรู้และให้คำแนะนำต่างๆอันเป็นประโยชน์ต่องานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ถ่ายทอดความรู้และให้คำแนะนำต่างๆอันเป็นประโยชน์ต่องานวิจัยนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมี และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยอุบลราชธานีที่กรุณาให้ความสะดวกในการเบิกสารเคมี และเครื่องแก้วต่างๆ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องสมุดมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่คอยให้ความช่วยเหลือในการสืบค้นข้อมูลต่าง ๆ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่รักษาความปลอดภัยอาคารปฏิบัติการทางกายภาพ(เคมี) ที่คอยให้ความสะดวกในการปฏิบัติงานวิจัย

สุดท้ายนี้ผู้ทำการวิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และทุกคนในครอบครัวที่ให้การสนับสนุนการศึกษา และเป็นกำลังใจตลอดมา

(นายประสิทธิ์ มานะพิมพ์)

ผู้วิจัย

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง : การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการหาปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้างโดยวิธีเจล์ดาห์ล และไบยูเรต

โดย : ประสิทธิ์ มานะพิมพ์

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา : วิทยาศาสตร์ศึกษา

ประธานกรรมการที่ปรึกษา : รศ.ดร.โชติ จิตรังษี

ศัพท์สำคัญ : เจล์ดาห์ล ไบยูเรต แมงป่องช้าง

แมงป่องช้างเป็นแมลงที่พบทั่วไปในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคอื่นๆ ของประเทศไทย ประชาชนบางส่วนนิยมนำมาบริโภค ด้วยเหตุดังกล่าวจึงได้ทำการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการโดยเฉพาะโปรตีนซึ่งเป็นสารอาหารที่สำคัญต่อร่างกายมนุษย์ ในการทดลองได้วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่างแมงป่องช้างโดยวิธีเจล์ดาห์ล (Kjeldahl method) และวิธีไบยูเรต (Biuret method) ทำการศึกษาหาปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยา น้ำหนักสารตัวอย่าง ปริมาณกรดซัลฟิวริก และเวลาที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการย่อยสลายในสารตัวอย่างที่สกัดไขมันและไม่สกัดไขมัน โดยทำการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 370 ± 5 องศาเซลเซียส จากการทดลองการย่อยสลายสารตัวอย่างที่สมบูรณ์ พบว่า แมงป่องช้างมีปริมาณโปรตีนเท่ากับร้อยละ 65 คิดเป็น0.26 กรัมต่อน้ำหนักของแมงป่องช้างอบแห้ง โดยไขมันไม่มีผลต่อการหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจล์ดาห์ล สำหรับวิธีไบยูเรต พบว่ามีปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 36 หรือคิดเป็น 0.145 กรัมต่อน้ำหนักแมงป่องช้างอบแห้ง เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ได้จากน้ำหนักแมงป่องช้างด้วยวิธีเจล์ดาห์ลและวิธีไบยูเรตคิดเป็นอัตราส่วน 65:36 หรือเท่ากับ 2 :1

ABSTRACT

TITLE : STUDIES COMPARISION FOR PROTEIN IN ASIAN FOREST SCORPION BY KJELDAHL AND BIURET METHODS

BY : MR.PRASITH MANAPIM

DEGREE : MASTER OF SCIENCE

MAJOR : SCIENCE EDUCATION

CHAIR : ASSOC.PROF. CHOTI JITRANGSRI, Ph.D.

KEYWORDS : KJELDAHL BIURET SCORPION

Giant scorpions are insects generally found in the Northeast region and also in other parts of Thailand. They are increasingly consumed by people as a snack or as a meal. Due to this reason the amount of protein in giant scorpions was study. The protein quantity analyzed by the Kjeldahl and Biuret methods are reported. In the Kjeldahl method, the catalytic amount, quantity of sulfuric acid, and the digestion time for certain amount of dried samples will be determined. Effect of fatty material in dried sample on protein quantity are also investigated. The digestion has been carried out at $370 \pm 5^{\circ}$ celcius and found that the protein content are 65 percent or 0.26 grams of dried sample.Moreover, the protein content in sample with and without fatty material extraction are almost the same. In the Biuret method, contains 36 percent or 0.145 grams of the sample. In comparision, the ratio of protein content from the Kjeldahl and the Biuret method is 65 : 36 (2 :1)

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	**ก**
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	**ข**
กิตติกรรมประกาศ	**ค**
สารบัญ	**ง**
สารบัญตาราง	**ฉ**
สารบัญภาพ	**ฎ**
บทที่	
1. บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.4 ขอบเขตของงานวิจัย	2
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 โปรตีน	6
2.2 สมบัติจำเพาะของกรดแอลฟาอะมิโน	8
2.3 เปปไทด์	10
2.4 คุณค่าทางอาหารของโปรตีน	10
2.5 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน	11
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	13
3. ขั้นตอนการทดลอง	
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	15
3.2 วิธีการทดลอง	16

สารบัญ

หน้า

4. ผลและวิจารณ์การทดลอง

4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณไขมันจากแมงป่องช้างโดยวิธีซอกห์เลต 18

4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนจากแมงป่องช้างโดยวิธีเจล์ดาห์ล

4.2.1 ผลของตัวเร่งปฏิกิริยาต่อการหาปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้างที่สกัดไขมันและไม่สกัดไขมัน 18

4.2.2 ผลของน้ำหนักสารตัวอย่างต่อการหาปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้าง 20

4.2.3 ผลของกรดซัลฟิวริกต่อการหาปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้าง 21

4.2.4 ผลของเวลาและกรดซัลฟิวริกกับการย่อยสลายสารตัวอย่างต่อการหาปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้าง 22

4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรต 25

5. สรุปผลการทดลอง 29

เอกสารอ้างอิง 31

ภาคผนวก

ก. การเตรียมสารละลายมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นที่แน่นอน 33

ข. แผนภูมิแสดงขั้นตอนการย่อยสลายโปรตีนโดยวิธีเจล์ดาห์ลและไบยูเรต 35

ค. ตารางแสดงค่าคอนเวอร์ชั่น แฟคเตอร์ สำหรับการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ของโปรตีน 38

ง. ผลการทดลองการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจล์ดาห์ลและวิธีไบยูเรตที่สกัดไขมันและไม่สกัดไขมัน 40

จ. การคำนวณหาร้อยละของโปรตีน 60

ฉ. หลักการทำงานของเครื่อง เจล์ดาห์ลและยูวี-วิสเบิลสเปกโตรโฟโตรเมตรี 62

ช. ประวัติผู้วิจัย 70

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

4.1	ปริมาณไขมันที่ได้จากการสกัดผงแมงป่องช้าง	17
4.2	ปริมาณโปรตีนของแมงป่องช้างที่สกัดไขมันและไม่สกัดไขมันเมื่อใช้สารตัวอย่าง 0.2 กรัม กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตร เวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย 6 ชั่วโมงเมื่อเปลี่ยนแปลง ปริมาณของตัวเร่งปฏิกิริยา	18
4.3	ปริมาณโปรตีนของแมงป่องช้างเมื่อใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรเวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย 6 ชั่วโมง เมื่อเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของแมงป่องช้าง	19
4.4	ปริมาณโปรตีนของแมงป่องช้างเมื่อใช้น้ำหนักสารตัวอย่าง 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม เวลาที่ใช้ย่อยสลาย 6 ชั่วโมง เมื่อเปลี่ยนแปลงปริมาณของกรดซัลฟิวริก	20
4.5	ปริมาณโปรตีนของแมงป่องช้างเมื่อใช้น้ำหนักสารตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และเวลาที่ใช้ย่อยสลาย 6 ชั่วโมงเมื่อเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดซัลฟิวริก	20
4.6	ปริมาณโปรตีนของแมงป่องช้างเมื่อใช้น้ำหนักสารตัวอย่าง 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และเวลาที่ใช้ย่อยสลาย 6 ชั่วโมงเมื่อเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดซัลฟิวริก	21
4.7	เวลาในการย่อยสลายโปรตีนในแมงป่องช้างเมื่อใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตร เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารตัวอย่างและเวลา	22
4.8	เวลาในการย่อยสลายโปรตีนของแมงป่องช้างเมื่อใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตร เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารตัวอย่างและเวลา	23
4.9	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างแมงป่องช้างตั้งแต่ความยาวคลื่น 500-600 นาโนเมตร	24

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่

4.10	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ความเข้มข้นต่างๆ และวัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร	25
4.11	ปริมาณโปรตีนของสารตัวอย่างที่สกัดไขมันและไม่สกัดไขมันกับค่าการดูดกลืนแสงวัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ของสารตัวอย่างที่สกัดไขมันและไม่สกัดไขมัน	27
5.1	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายที่สมบูรณ์โดยวิธีเจล์ดาห์ล	28
ก.1	น้ำหนักของ Primary standard KHPและปริมาตรNaOHที่ใช้ในการไทเทรตเพื่อหาความเข้มข้นที่แน่นอนของ NaOH	34
ก.2	ปริมาตรของ Secondary standard NaOH และปริมาตร HCl ที่ใช้ในการไทเทรตเพื่อหาความเข้มข้นที่แน่นอนของ HCl	34
ค.1	ค่าคอนเวอร์ชั่น แฟคเตอร์ สำหรับเปลี่ยนเปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจน	36
ง.1	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้ปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยา 2.0 กรัม น้ำหนักสารตัวอย่าง 0.2 กรัม กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	41
ง.2	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้ปริมาณ ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม น้ำหนักสารตัวอย่าง 0.2 กรัม กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	42
ง.3	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้ปริมาณ ตัวเร่งปฏิกิริยา 6.0 กรัม น้ำหนักสารตัวอย่าง 0.2 กรัม กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	42
ง.4	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้ปริมาณ ตัวเร่งปฏิกิริยา 8.0 กรัม น้ำหนักสารตัวอย่าง 0.2 กรัม กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	43
ง.5	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.2 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	43
ง.6	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.4 กรัมตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	43
ง.7	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	44

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่

ง.8 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.8 กรัมตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง 44

ง.9 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.4 กรัมตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง 44

ง.10 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.4 กรัมตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง 45

ง.11 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.4 กรัมตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตร ในเวลา 6 ชั่วโมง 45

ง.12 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยรสลายสาตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง 45

ง.13 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.6 กรัมตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง 46

ง.14 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง 46

ง.15 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง 46

ง.16 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง 47

ง.17 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.8 กรัมตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง 47

ง.18 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง 47

ง.19 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง 48

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่

ง.20	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง	48
ง.21	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัมกรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง	48
ง.22	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัมกรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง	49
ง.23	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง	49
ง.24	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.2 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 2.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	50
ง.25	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.2 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	50
ง.26	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.2 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 6.0 กรัมและ กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	50
ง.27	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.2 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 8.0 กรัมและ กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	51
ง.28	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.2 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	51
ง.29	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	51
ง.30	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	52
ง.31	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	52

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ง.32	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	52
ง.33	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโม	53
ง.34	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	53
ง.35	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	53
ง.36	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	54
ง.37	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	54
ง.38	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	54
ง.39	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	55
ง.40	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง	55
ง.41	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง	55
ง.42	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง	56
ง.43	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง	56

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ง.44	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง	56
ง.45	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง	57
ง.46	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง	57
ง.47	การดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่สกัดไขมันจำนวน 0.4 กรัมวัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร	58
ง.48	แสดงการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่สกัดไขมันจำนวน 0.6 กรัม วัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร	58
ง.49	การดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่สกัดไขมันจำนวน 0.8 กรัมวัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร	59
ง.50	การดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ไม่สกัดไขมันจำนวน 0.4 กรัม วัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร	59
ง.51	การดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ไม่สกัดไขมันจำนวน 0.6 กรัม วัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร	59
ง.52	การดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ไม่สกัดไขมันจำนวน 0.8 กรัม วัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร	60

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	แมงป่องช้าง	4
2.2	สเปกตรัมการดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตของไทโรซีน ฟีนิลอะลานิน และทริปโตเฟน	8
4.1	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างแมงป่องช้างวัดที่ ความยาวคลื่น550 นาโนเมตร	25
4.2	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายอัลบูมินวัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร	26
ฉ.1	เครื่องสเปกโตรโฟโตมิตรี	66
ฉ.2	เครื่องเจล์คาห์ล	68
ฉ.3	เครื่อง Nitrogen Distillation	68

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ในอดีตมนุษย์เรามีการนำแมลงมาเป็นอาหารกันหลายประเทศรวมทั้งประเทศไทยโดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้มีการนำแมลงกว่า 50 ชนิดมาทำเป็นอาหารบริโภค รวมทั้งแมงป่องช้างด้วย

แมงป่องช้าง (giant scorpion , Asian forest scorpion, black scorpion) หรือแมงเงาเป็นชื่อเรียกในภาษาอีสาน,แมงป่องชื่อทางภาคใต้,แมงป่องจ๊างชื่อทางภาคเหนือซึ่งเป็นสัตว์อยู่ในวงศ์ Scorpionidae สกุล Heterometrus ได้แก่ *H. tongimanus* และ *H. laoticus* ที่พบมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย คือ *H.laoticus* เป็นแมงป่องที่มีขนาดใหญ่สกุลหนึ่งของโลก ชาวบ้านบางส่วนนิยมนำมาบริโภคโดยนำไปคั่ว ทอด ปิ้ง โดยเชื่อว่าน่าจะมีสารบางชนิดที่ช่วยกระตุ้นให้ร่างกายมีกำลัง มีผู้ทำการวิจัยศึกษาเกี่ยวกับแมงป่องช้าง เช่น การศึกษาพิษจากเหล็กไน ศึกษาการเรืองแสง [1] และได้มีการศึกษาด้านโภชนาการจากแมลงโดยเฉพาะเกี่ยวกับโปรตีน ผลการศึกษาหาปริมาณโปรตีนในแมลงต่างๆจำนวน 100 กรัมมีโปรตีนดังนี้ จิ้งหรีด 12.9 กรัม จิ้งโกร่ง 20.7 กรัม ดักแด้อ้อย 22 กรัม ตั๊กแตนปาทังกา 25.8 กรัม แมงตับเต่า 18.3 กรัม แมงเหนี่ยว 15. 8 กรัม หนอนหน่อไม้ 8 กรัม ไข่มดแดง 8.7 กรัม แมงดาเล็ก 14.9 กรัม ตัวอ่อนแมงปอ 9.8 กรัม แมงนูน 13 กรัม แมงกระชอน 15.4 กรัม แมงดานา 19.8 กรัม ดักแด้ 9.6 กรัม [2,3] และพบว่าแมลงแต่ละชนิดมีปริมาณโปรตีนแตกต่างกัน ในกรณีของแมงป่องช้าง ซึ่งเป็นแมลงที่มีการบริโภคอย่างแพร่หลายจนมีผู้เพาะเลี้ยงเพื่อจำหน่าย [4] แต่ยังไม่มีการศึกษาด้านโภชนาการและด้านอื่นๆโดยเฉพาะโปรตีนจากเหตุผลนี้จึงเป็นประเด็นการศึกษาที่จะเป็นประโยชน์ต่อสาธารณชน เพื่อเป็นข้อมูลในด้านการบริโภค การตลาดและเพิ่มความเข้าใจที่ถูกต้องแก่ประชาชน ในการวิจัยครั้งนี้ ได้เลือกวิธีการศึกษาโดยใช้เทคนิคที่มาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนคือวิธีเจล์ดาห์ลและวิธีไบยูเรต วิธีเจล์ดาห์ลมีข้อดีคือเป็นวิธีที่มาตรฐานที่ใช้หาปริมาณโปรตีนได้ถูกต้องและบอกปริมาณของไนโตรเจนในสารตัวอย่างได้แม่นยำ ข้อเสียคือมีขั้นตอนที่ซับซ้อน ใช้เวลาในการวิเคราะห์นานและอุปกรณ์มีราคาแพง ส่วนวิธีไบยูเรตมีข้อดีคือ เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก ใช้เวลาน้อยในการวิเคราะห์ ข้อเสีย คือ ไม่สามารถบอกปริมาณของไนโตรเจนทั้งหมดในสารตัวอย่างได้ครบ ดังนั้นจึงได้เปรียบเทียบหาค่าคอนเวอร์ชั่นแฟคเตอร์ของโปรตีนระหว่างวิธีเจล์ดาห์ลและวิธีไบยูเรต แต่เนื่องจากวิธีไบยูเรต

สะดวกใช้ง่าย เพราะฉะนั้นจึงใช้วิธีไบยูเรตหาปริมาณโปรตีนโดยเทียบกับค่าคอนเวอร์ชั่นแฟคเตอร์ของโปรตีน ซึ่งวิธีนี้เหมาะกับโรงเรียนที่มีเครื่องยูวี-วิสสิเบิลและอุปกรณ์การทำไบยูเรต เพื่อหาปริมาณโปรตีนจากสัตว์ชนิดต่างๆที่สนใจและเป็นวิธีหาแหล่งโปรตีนแทนเนื้อซึ่งมีราคาแพง

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 ศึกษาผลของปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยา, น้ำหนักแมงป่องช้าง, ตัวย่อยสลาย,ไขมันและเวลาที่ใช้ต่อการหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจล์ดาห์ล

1.2.2 ศึกษาผลของไขมันต่อการหาปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้างโดยวิธีไบยูเรต

1.2.3 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้างโดยวิธีเจล์ดาห์ลและวิธีไบยูเรต

1.2.4 หาค่าคอนเวอร์ชั่นแฟคเตอร์ของโปรตีนในแมงป่องช้างระหว่างวิธีเจล์ดาห์ลและวิธีไบยูเรต

1.3 ประโยชน์ที่ได้รับ

1.3.1 ทราบปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้าง

1.3.2 มีข้อมูลด้านโภชนาการที่จะเป็นประโยชน์ต่อสาธารณชน

1.4 ขอบเขตของการศึกษาวิจัย

การศึกษาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้างด้วยวิธีเจล์ดาห์ลและวิธีไบยูเรต มีขั้นตอนดังนี้

ขั้นที่ 1 เตรียมแมงป่องช้างและสกัดไขมันจากแมงป่องช้างโดยวิธีซอกห์เลต

ขั้นที่ 2 หาปริมาณโปรตีนที่ได้จากแมงป่องช้างโดยวิธีเจล์ดาห์ล

ขั้นที่ 3 ศึกษาปริมาณของตัวเร่งปฏิกิริยา,แมงป่องช้าง,กรดซัลฟิวริก,และเวลาที่ใช้มีผลต่อปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจล์ดาห์ล

ขั้นที่ 4 หาปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้างที่สกัดไขมันและไม่สกัดไขมันโดยวิธีไบยูเรต

ขั้นที่ 5 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้างด้วยวิธีเจล์ดาห์ลและไบยูเรต

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

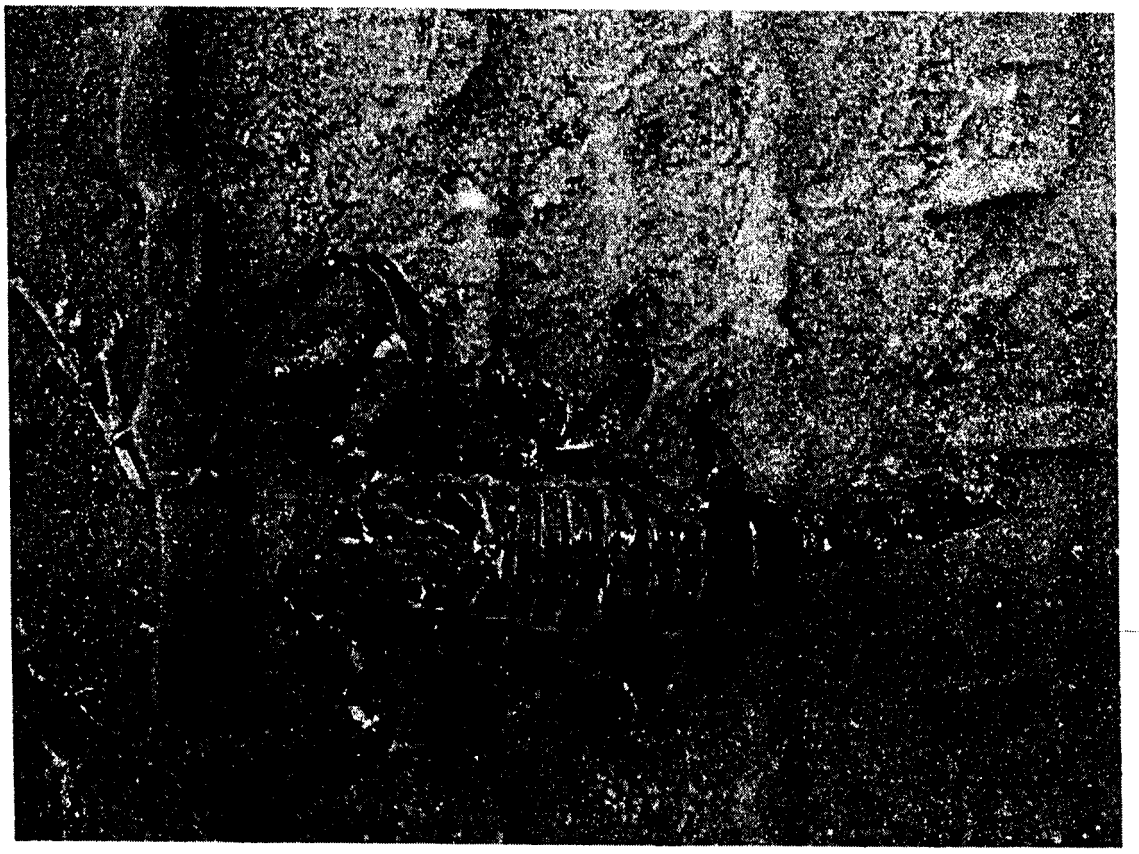
เนื้อสัตว์ สัตว์ปีก ปลา และกุ้ง เป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่มีคุณภาพสูงหรือมีเปอร์เซ็นต์ของโปรตีนสมบูรณ์ (complete protein) สูงหรือกล่าวได้ว่าอาหารโปรตีนคุณภาพสูงมาจากอาณาจักรสัตว์ แมลงเป็นสิ่งที่มีชีวิตซึ่งอยู่ในอาณาจักรสัตว์และทราบกันว่ามีความสัมพันธ์กับ crustaceans หรือ arthropods ทำให้นักวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คาดว่าแมลงน่าจะประกอบด้วยโปรตีนคุณภาพสูง นอกจากนี้แมลงมีวงจรชีวิตสั้น จึงอาจเป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่มีราคาถูก

แมงป่องช้างเป็นสัตว์ที่จัดอยู่ในไฟลัม Arthropoda วงศ์ Scorpionidae เป็นสัตว์มีพิษที่มีมาตั้งแต่ยุคดึกดำบรรพ์ ซึ่งยืนยันจากการค้นพบฟอสซิลของแมงป่องที่มีอายุถึง 440 ล้านปี เช่น Archaeobuthus estephani หรือ Protoischnurus axelrodorum เป็นต้น ปัจจุบันมีแมงป่องประมาณ 1,200 ชนิด (species) อยู่กระจัดกระจายเกือบทั่วไป ไม่ว่าเป็นเขตทะเลทราย เขตร้อนชื้น หรือแม้แต่แถบชายฝั่งทะเล ยกเว้นเพียงเขตขั้วโลกเหนือและขั้วโลกใต้ที่ไม่พบแมงป่อง และแมงป่องที่มีพิษร้ายแรงมี 50 ชนิด บางชนิดมีพิษรุนแรงมาก เช่น แมงป่องในสกุล Centruroides ที่รัฐอริโซน่า สหรัฐอเมริกา พิษของมันสามารถทำให้เด็กและผู้สูงอายุที่ถูกต่อยเสียชีวิตได้ [1]

ส่วนในประเทศไทยที่พบมากที่สุดคือ แมงป่องในอันดับ Scorpiones (Scorpionidae) ไฟลัมArthropoda วงศ์ Scorpionidae สกุล Heterometrus ได้แก่ *H.longimanus* และ *H.laoticus* พบ *H.laoticus* ซึ่งพบมากทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย แมงป่องในสกุลนี้เป็นแมงป่องที่มีขนาดใหญ่สกุลหนึ่งของโลก มีสีดำสนิทยาวขนาด 9-12 เซนติเมตร น้ำหนักตัว 10-12 กรัม มีอายุราว 3-5 ปี และจำแนกจากกันได้ยาก จึงเรียกกันทั่วไปว่า Giant scorpion หรือ Asian forest scorpion หรือ Black scorpion หรือ "แมงป่องช้าง" ในภาษาไทย หรือ "แมงเงา" ในภาษาอีสาน นอกจากนี้ยังมีแมงป่องที่อยู่ในวงศ์ Buthidae สกุล Isometrus ที่พบตามบ้านเรือน มักมีสีน้ำตาลอ่อน และมีลายดำหรือน้ำตาลคาด จึงเรียกว่า Striped scorpion ขนาดลำตัวยาวไม่เกิน 5 เซนติเมตร เรียกทั่วไปว่า"แมงป่อง" หรือ"แมงงอด" ในภาษาอีสาน

ประเทศไทยพบแมงป่อง 11 ชนิด ที่รู้จักกันทั่วไปน่าจะเป็น" แมงป่องช้าง " แมงป่องช้างมีพฤติกรรมที่ไม่ชอบแสงสว่าง จะหลบซ่อนอยู่ตามสถานที่มืดและชื้น เช่น ใต้ก้อนหิน ใต้กองไม้ ใต้ใบไม้ ขุดโพรง หรือขุดรูอยู่ตามป่าละเมาะออกหากินในเวลากลางคืน แมงป่องช้างเป็นสัตว์มีเปลือกแข็งหุ้มมีขาจำนวน 4 คู่ อวัยวะที่โดดเด่นคือ ก้ามใหญ่

(pedipalps) 1 คู่ มีส่วนหัวและหน้าอกอยู่รวมกันเรียกว่า มีโปรโซมา (meprosoma) มีตาบนหัว 1 คู่ และตาข้างอีก 3 คู่ ตรงปากมีก้ามเล็ก 1 คู่ ส่วนถัดมาเรียกว่า มีโซโซมา (mesosoma) ประกอบด้วย ปล้อง 7 ปล้อง ด้านหน้าท้องมีอวัยวะสำคัญ คือ ช่องสืบพันธุ์ และ มีอวัยวะที่เรียกว่า เพคไทน์ (pectine) หรือเพคทีน (pectene) 1 คู่ มีรูปร่างคล้ายหวี ทำหน้าที่รับความรู้สึกจากการสั่น ของพื้นดิน ส่วนสุดท้ายคือหางเรียวยาวเรียกว่า เมตาโซมา (metasoma) ประกอบด้วยปล้อง 5 ปล้อง และปล้องสุดท้ายคือ ปล้องพิษมีลักษณะป่องกลมปลายเรียวแหลมคล้ายรูปหยดน้ำกลับหัวบรรจุต่อมพิษมีเข็มที่ใช้ต่อยเรียกว่า เหล็กใน (sting apparatus) เสมือนเป็นเข็มเพชฌฆาตฉีดพิษเพื่อคร่าชีวิตเหยื่อผู้เคราะห์ร้ายดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 แมงป่องช้าง

อาหารของแมงป่องช้างเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กชนิดต่างๆ เช่น ตั๊กแตน จิ้งหรีด หนอน ลูกจิ้งจก แมงป่องช้างผสมพันธุ์ในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึง สิงหาคม ในการจับคู่ แมงป่องช้างหนุ่มจะใช้ก้ามใหญ่หนีบกับก้ามใหญ่ของแมงป่องช้างสาวทั้งสองจะเดินเป็นจังหวะไปข้างหน้าและถอยหลังหรือวนเป็นวงกลมไปรอบๆ ช่วงเวลาสำคัญที่สุดมาถึงเมื่อแมงป่องช้างหนุ่มวางถุงน้ำเชื้อของตนลงบนพื้น แล้วหมุนและกดตัวแมงป่องช้างสาวให้คร่อมกับถุงน้ำเชื้ออสุจิจะผ่านช่องสืบพันธุ์

ของแมงป่องช้างสาวเพื่อผสมกันในท้อง เมื่อผสมพันธุ์เสร็จแล้ว แมงป่องสาวจะจับแมงป่องช้างหนุ่มกินเป็นอาหารหรือบางครั้งแมงป่องช้างหนุ่มก็จับตัวเมียกินเป็นอาหาร

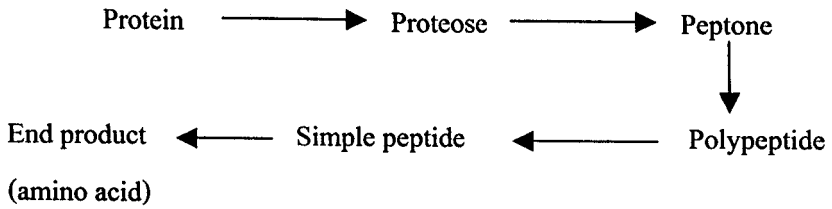
การตั้งท้องของแมงป่องช้างจะนาน 7 เดือนถึง 1 ปีและจะออกลูกเป็นตัวจากช่วงสืบพันธุ์ในเดือนพฤษภาคม ถึง สิงหาคมในช่วงฤดูฝนที่มีอาหารอุดมสมบูรณ์ แต่ละครั้งจะให้ลูก 7 ถึง 28 ตัว ด้วยอัตรา 1 ตัวต่อ 1 ชั่วโมงเมื่อตกลูกแล้วแมงป่องช้างน้อยจะอาศัยอยู่บนหลังแม่จนอายุได้15 วัน ลงจากหลังแม่ และคอยกินอาหารจากแม่จนอายุได้ 1 ปี ก็จะลอกคราบอีกครั้งหนึ่งถึงได้โตเต็มวัย แมงป่องช้างจะมีอายุราว 3—5 ปี [1]

2.1 โปรตีน (Protein)

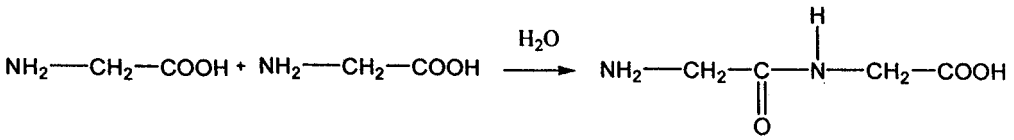
โปรตีนนอกจากเป็นสารที่ให้พลังงานเช่นเดียวกับไขมันและคาร์โบไฮเดรต ยังมีการใช้โปรตีนเพื่อการเจริญเติบโตและสร้างเซลล์ใหม่ขึ้นมาทดแทนเซลล์ต่างๆ ที่เสื่อมสลายไป รวมทั้งการควบคุมกระบวนการทำงานต่างๆภายในร่างกาย อาจเป็นเพราะสารชนิดนี้มีความสำคัญเป็นอันดับหนึ่ง ในปี ค.ศ. 1838 Berselius และ Mulder จึงให้ชื่อว่า PROTEIN ซึ่งแปลว่า First ซึ่งอาจหมายถึงส่วนที่สำคัญที่สุดในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต โดยมีอยู่ในทุกๆบริเวณของเซลล์ทั้งในสัตว์และพืช ทั่วไป พืชสามารถสังเคราะห์โปรตีนได้จากสารประกอบอนินทรีย์ที่มีในอากาศและดินคือธาตุไนโตรเจน คาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ แต่คนและสัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ต้องได้รับจากอาหาร คาร์โบไฮเดรตและไขมันไม่สามารถนำไปใช้แทนโปรตีนได้เพราะไม่มีธาตุไนโตรเจนและกำมะถันอยู่ในส่วนประกอบ [5]

โปรตีนส่วนใหญ่ในธรรมชาติถูกแยกให้บริสุทธิ์ได้ ทำให้สามารถศึกษาส่วนประกอบของโปรตีนแต่ละชนิดได้ โมเลกุลของโปรตีนทุกชนิดประกอบด้วยธาตุ คาร์บอน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน ออกซิเจน และมีซัลเฟอร์อยู่ในโมเลกุลด้วย นอกจากนี้โปรตีนยังมีธาตุชนิดอื่นๆ เป็นส่วนประกอบอีก เช่น ฟอสฟอรัส เหล็ก สังกะสี ทองแดง ปริมาณของไนโตรเจนที่มีอยู่ในโปรตีนในอาหารโดยเฉลี่ยประมาณร้อยละ16 โปรตีนมีมวลโมเลกุลสูงมาก ซึ่งมีค่าตั้งแต่ 15,000 - 20,000,000 หน่วย ถ้านำโปรตีนมาย่อยสลายด้วยน้ำโดยมีกรดเป็นตัวเร่ง ได้สารประกอบอินทรีย์ที่เรียกว่า กรดแอลฟาอะมิโน (α-amino acid) และสารละลายคอลลอยด์ (Colloidal solution) ซึ่งไม่สามารถ dialyze ผ่านเยื่อ จึงแยกโปรตีนออกจากสารที่ละลายในน้ำได้ง่าย

เมื่อถูกไฮโดรไลซ์ โมเลกุลขนาดใหญ่ของโปรตีนจะเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็กลงตามลำดับดังนี้



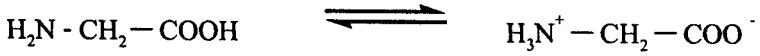
Peptide หมายถึงสารประกอบที่เกิดจากหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group,-COOH) ของกรดอะมิโน (amino acid)โมเลกุลหนึ่งรวมกับหมู่อะมิโน (amino group,-NH_2) ของโมเลกุลถัดไป ทำให้เกิดเป็น acid amide (-CONH-) ภายในโมเลกุล โมเลกุลของโปรตีนจะประกอบด้วย peptide linkage แบบนี้เป็นจำนวนมาก ดังตัวอย่าง



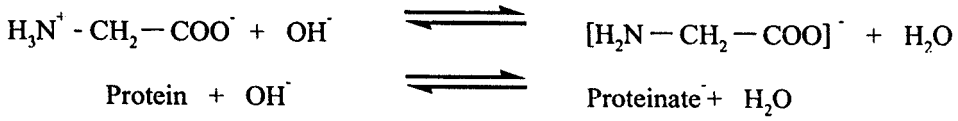
Glycine Glycine Glycylglycine(dipeptide)

กรดอะมิโนที่ได้จากการไฮโดรไลซ์โปรตีน ส่วนใหญ่จะเป็น α-amino acid หลายชนิด มี α-amino acid 10 ตัวที่จำเป็นมากสำหรับร่างกาย ถ้าขาดตัวใดตัวหนึ่งไปจะทำให้ร่างกายไม่เจริญเติบโตตามปกติรวมทั้งสุขภาพและอนามัยไม่สมบูรณ์เท่าที่ควรจะเป็นα-amino acid เหล่านี้เรียกว่า กรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) ร่างกายของเราสร้างขึ้นเองไม่ได้จึงจำเป็นต้องมีอยู่ในอาหารที่เรารับประทานได้แก่ อาร์จีนีน,ฮีสทิดีน,ไอโซลูซีน,ลูซีน,ไลซีน,เมไทโอนีน,ฟีนิลแอลานีน,ทรีโอนีน,ทริปโตเฟนและวาลีน กรดอะมิโนเหล่านี้ไม่ได้อยู่ในอาหารทุกประเภท ดังนั้นจึงต้องรับประทานอาหารหลากหลายชนิดให้เพียงพอต่อความต้องการ [6]

เนื่องจากกรดอะมิโนมีทั้ง -NH_2 และ -COOH เป็นหมู่ฟังก์ชัน ส่วนใหญ่โมเลกุลจะอยู่เป็น internal salt ที่เรียกว่า "zwitterion" หรือ hybrid ion หรือ dipolar ion ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีขั้ว แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น น้ำ ตัวอย่าง เช่น ไกลซีน



ทั้งกรดอะมิโน และโปรตีนเป็น amphoteric substance ในสารละลายที่เป็นเบสจะมีประจุลบ ดังนี้



สารละลายที่ค่อนข้างเป็นกรดจะมีประจุบวกดังนี้

$$H_3N^+ - CH_2 - COO^- + H_3O^+ \rightleftharpoons [H_3N - CH_2 - COOH]^+ + H_2O$$

$$\text{Protein} + H_3O^+ \rightleftharpoons \text{Protein } H^+ + H_2O$$

ดังนั้นกรดอะมิโนและโปรตีนอาจมีประจุลบหรือบวกก็ได้ ขึ้นอยู่กับความเป็นกรดเป็นเบสหรือ pH ของสารละลายนั้น กรดอะมิโน และ โปรตีนแต่ละชนิดจะมี pH คงที่ค่าหนึ่งที่ทำให้โมเลกุลอยู่ในสภาพที่เป็น dipolar ion คือมีประจุไฟฟ้าที่เป็นกลางหรือเป็นศูนย์ ค่า pH นี้เรียกว่า "isoelectric point"(pI) ค่านี้ไม่จำเป็นต้องเป็นจุดสะเทิน (คือ pH = 7) แต่ขึ้นอยู่กับกรดอะมิโนหรือโปรตีนชนิดนั้นๆ ค่า pI นี้สำคัญมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งใช้ในการแยกกรดอะมิโนหรือโปรตีนออกจากกัน หรือการทำกรดอะมิโนและโปรตีนให้บริสุทธิ์ เพราะที่ pH นี้กรดอะมิโนและโปรตีนละลายได้น้อยที่สุดและจะตกตะกอนออกมา จะเห็นได้ว่าในสารละลายที่เป็นเบสเล็กน้อยโปรตีนจะมีประจุลบดังนั้นถ้าเติมแคตไอออน (cation) บางตัวที่เป็นเกลือของโลหะหนัก เช่น เกลือของปรอท ตะกั่ว ทองแดง แคดเมียม และสังกะสี จะทำให้โปรตีนตกตะกอนเป็นเกลือของแคตไอออนเหล่านี้ สำหรับในสารละลายที่ค่อนข้างเป็นกรด โปรตีนจะมีประจุบวก ดังนั้นถ้าเติม แอนไอออน(anion) บางตัว เช่น $K_3Fe(CN)_6$, $K_4Fe(CN)_6$, sodium tungstate, sodium phosphomolybdate หรือ sodium picrate จะทำให้โปรตีนตกตะกอนเพราะเกิดเป็นเกลือกับแอนไอออนเหล่านี้เช่นกัน

โปรตีนบางชนิดเมื่อได้รับความร้อนหรือถูกกับสารเคมีบางอย่าง เช่น strong mineral acid (หมายถึง H_2SO_4, HCl, HNO_3) เบส แอลกอฮอล์ อะซิโตน รังสีเอกซ์ รังสีอัลตราไวโอเลตจะตกตะกอนหรือเกิดการจับเป็นก้อน (coagulation) ทำให้โปรตีนเปลี่ยนสภาพไปจากเดิม สมบัติทางเคมีและทางชีวภาพก็เปลี่ยนไปด้วย การเปลี่ยนนี้เรียกว่า การแปลงสภาพ (denaturation)

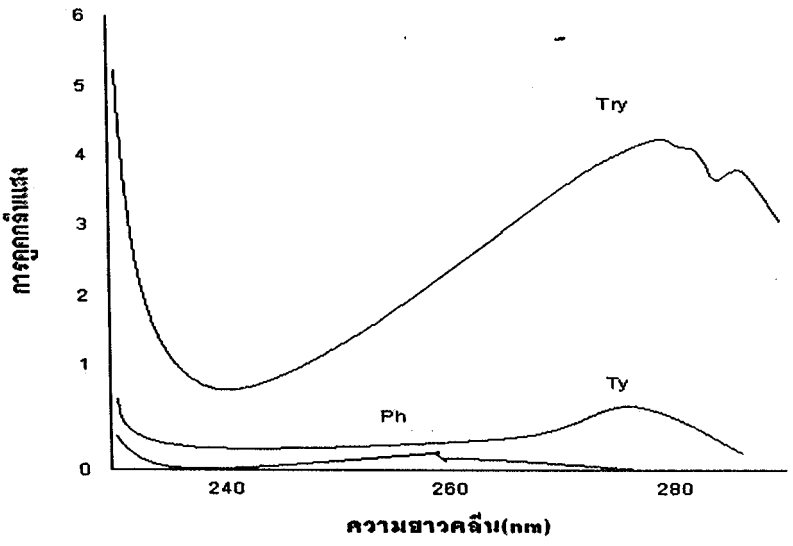
เนื่องจากโปรตีนเป็นหมู่ฟังก์ชันหลายชนิดอยู่ในโมเลกุล ดังนั้นโปรตีนแต่ละชนิดอาจให้หรือไม่ให้สีกับรีเอเจนต์ทุกตัวที่ใช้ทดสอบขึ้นกับหมู่ฟังก์ชันที่มีในโปรตีนนั้นๆ การทดสอบปฏิกิริยาของโปรตีนจึงมีหลายวิธี ซึ่งอาจเป็นวิธีทั่วๆไปหรือวิธีเฉพาะตัวก็ได้ สารที่ให้ผลการทดสอบบวกกับรีเอเจนต์ชนิดหนึ่ง อาจให้ผลการทดสอบลบกับรีเอเจนต์อีกชนิดหนึ่งก็ได้ สารที่ให้ผลการทดสอบบวกกับรีเอเจนต์เพียงชนิดเดียวจะถือว่าเป็นโปรตีนยังไม่ได้ สำหรับปฏิกิริยาไบยูเรตและ นินไฮดรินจะให้ผลการทดสอบบวกกับโปรตีนโดยทั่วๆไป [6]

2.2 สมบัติจำเพาะของกรดแอลฟาอะมิโน

2.2.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสง (absorption spectra)

กรดอะมิโนทั้ง 20 ชนิดดูดกลืนแสงที่ช่วงคลื่น 220 นาโนเมตร นอกจากนี้กรดอะมิโนบางชนิด เช่นไทโรซีน ฟีนิลอะลานิล และทริปโทเฟน สามารถดูดกลืนแสงที่ช่วงคลื่น 260-

260-280 นาโนเมตร (ดังภาพที่ 2.2) กรดอะมิโนทั้ง 3 ชนิดดังกล่าวมักพบในโปรตีนแทบทุกชนิด จึงใช้ช่วงคลื่นนี้หาปริมาณของโปรตีนโดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี (spectroscopy) กรดอะมิโนซิสเทอีนสามารถดูดกลืนแสงที่ 210 นาโนเมตร ได้เล็กน้อย เนื่องจากมีหมู่ซัลฟ์ไฮดริลอยู่ในโมเลกุล และไม่มีกรดอะมิโนชนิดใดที่ถูกดูดกลืนแสงในช่วงวิสิเบิล



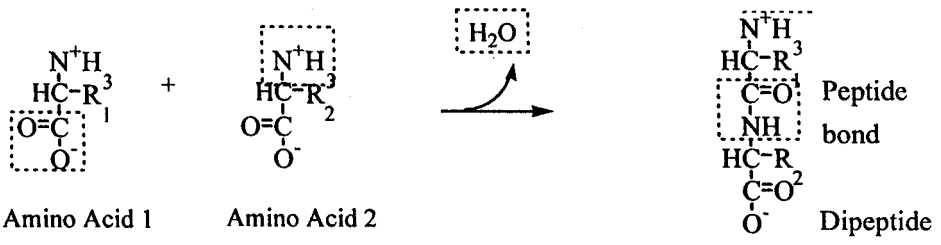
ภาพที่ 2.2 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงช่วงอัลตราไวโอเรตของไทโรซีน ฟีนิลอะลานินและทริปโตเฟน

2.2.2 สมบัติที่ไวทางแสง (optical activity of amino acid)

กรดแอลฟาอะมิโนทุกชนิดยกเว้นไกลซีน มีคาร์บอนอสมมาตรที่ตำแหน่งคาร์บอนโดยถูกเกาะเกี่ยวด้วยหมู่แทนที่ที่แตกต่างกัน 4 ชนิด ทำให้สามารถบิดเบนแสงระนาบเดียว (polarized light) ได้เรียกสารที่มีคุณสมบัตินี้ว่าสารที่ไวทางแสง (optically active compound) สารที่มีคาร์บอนอสมมาตรมี 2 รูป คือ D และ L ซึ่งเป็นเงาในกระจกของกันและกัน กรดอะมิโนที่พบในธรรมชาติเป็นชนิด L ส่วนชนิด D พบเฉพาะในผนังเซลล์ของแบคทีเรีย และในเปปไทด์ที่ทำหน้าที่เป็นสารปฏิชีวนะ (anti-biotic) เช่น แอกทิโนมัยซิน (actinomycin) สามารถเปรียบเทียบสมบัติที่ไวแสงของกรดอะมิโนได้โดยใช้ ค่ามุมเบนจำเพาะ พบว่าค่ามุมเบนจำเพาะของกรดอะมิโนชนิด L มีทั้งค่าบวก (เดกซ์-โทรโรเทเทอรี) และค่าลบ (ลีโวโรเทเทอรี) ค่าของมุมเบนจำเพาะของกรดอะมิโนแต่ละชนิดนอกจากจะขึ้นอยู่กับแขนงข้างของกรดอะมิโนแล้วยังขึ้นกับ pH ในขณะทำการวัดด้วย โดยทั่วไปแล้วกรดอะมิโนที่มีหมู่คาร์บอกซิลและหมู่อะมิโนอย่างน้อยหนึ่ง 1 หมู่ มีค่ามุมเบนจำเพาะเป็นลบที่จุดไอโซอิเล็กทริก [7]

2.3 เปปไทด์ (peptide)

เปปไทด์ คือ กรดอะมิโนที่ต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์ โดยใช้หมู่คาร์บอกซิลของกรดอะมิโนชนิดหนึ่งต่อกับหมู่อะมิโนของกรดอะมิโนอีกชนิดหนึ่ง การที่กรดอะมิโนมาต่อกับเปปไทด์ทำให้สมบัติในการที่มีขั้วบวกลบอยู่ในโมเลกุลหมดไป แต่สมบัติการไวแสงยังคงอยู่ ดังตัวอย่าง



2.3.1 สมบัติของเปปไทด์

2.3.1.1 สมบัติในการเป็นกรด-เบสของเปปไทด์ขึ้นอยู่กับผลรวมประจุในเปปไทด์ที่เป็นแขนงข้าง ทั้งนี้ยังรวมกับประจุของปลายไนโตรเจนและหมู่คาร์บอกซิลของปลายคาร์บอน และถ้ายิ่งเปปไทด์สายยาวปลายไนโตรเจนและปลายคาร์บอนจะมีผลน้อยที่สุด

2.3.1.2 สมบัติทางเคมีของเปปไทด์ ที่ปลายไนโตรเจนของเปปไทด์แสดงสมบัติในการทำปฏิกิริยาทางเคมีได้เหมือนหมู่อะมิโนอิสระในกรดแอลฟาอะมิโน เช่น การทำปฏิกิริยากับนินไฮดริน ได้สีม่วงเกิดขึ้น เช่นเดียวกับส่วนปลายคาร์บอนของเปปไทด์ก็มีสมบัติเหมือนหมู่คาร์บอกซิลอิสระในกรดแอลฟาอะมิโน นอกจากนี้เปปไทด์ยังสามารถทำปฏิกิริยากับไบยูเรตได้เหมือนโปรตีนทั่วไปแต่กรดอะมิโนไม่สามารถทำปฏิกิริยาได้ ไบยูเรตเตรียมได้จากการให้ความร้อนยูเรีย (urea) ที่ 180 ° C

2.3.1.3 สมบัติที่ไวทางแสง ในธรรมชาติสายเปปไทด์มีสมบัติแสดงความไวทางแสงน้อยกว่าผลบวกของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในสายเปปไทด์นั้น ทั้งนี้เพราะมีผลของโครงสร้างทุติยภูมิและโครงสร้างตติยภูมิของโปรตีนเกี่ยวข้องด้วย

2.4 คุณค่าทางอาหารของโปรตีน

ร่างกายจะใช้โปรตีนจากอาหารในการสร้างโปรตีนในร่างกาย ซึ่งการสังเคราะห์โปรตีนจะถูกกระตุ้นโดยฮอร์โมนอินซูลินและฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในระยะที่ร่างกายกำลังเจริญเติบโต อินซูลินเป็นตัวเร่งในการลำเลียงกรดอะมิโนผ่านผนังเซลล์ การขาดอินซูลินทำให้การสังเคราะห์โปรตีนลดลง เมื่อร่างกายได้รับโปรตีนน้อยกว่าที่ร่างกายต้องการ หรือขาดเรื้อรังทำให้ร่างกายไม่

เจริญเติบโตหรือเจริญช้ามาก สมองและสติปัญญาด้อย ขาดอำนาจต้านทานโรค เกิดการติดเชื้อ และอักเสบง่าย เหนื่อยง่าย กล้ามเนื้ออ่อนเพลีย ตับหย่อนสมรรถภาพ [8]

โปรตีนจะเปลี่ยนสภาพได้โดยไม่มีการทำลายพันธะเปปไทด์ และองค์ประกอบทางเคมีไม่เปลี่ยนแปลง แต่อาจจะทำให้พันธะเปปไทด์ของโปรตีนพร้อมที่จะถูกไฮโดรไลซ์โดยเอนไซม์โปรติโอไลติก (proteolytic enzyme) นอกจากนี้ยังทำให้การละลายของโปรตีนลดลงหรือเกิดการตกผลึกจากสารละลาย และมีความหนืดมากขึ้นปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนสภาพของโปรตีน ได้แก่ ความร้อน กรด ด่าง อุณหภูมิ และปริมาณน้ำในอาหาร โดยอุณหภูมิสูง อัตราการเปลี่ยนรูปจะมีเพิ่มขึ้น เช่น ทุก 10 องศาเซลเซียส ที่สูงขึ้น การเปลี่ยนรูปจะเพิ่มขึ้นเป็น 600 เท่าดังนั้นการแปรรูปอาหารที่อุณหภูมิต่ำ จะลดการเปลี่ยนสภาพลง ส่วนปริมาณน้ำในอาหารถ้ามีมาก การเปลี่ยนสภาพจะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำโปรตีนจะเกิดเป็นสารละลายคอลลอยด์เมื่อผสมกับน้ำ ซึ่งสามารถผ่านกระดาษกรองได้ และไม่สามารถผ่านเยื่อบางๆได้ สมบัติข้อนี้มีความสำคัญต่อร่างกายมาก โปรตีนที่อยู่ในกระแสเลือดไม่สามารถผ่านเยื่อบางๆได้ ดังนั้นจึงยังคงอยู่ในกระแสเลือดได้ และไม่ควรจะมีโปรตีนในปัสสาวะ การมีโปรตีนในปัสสาวะแสดงถึงการสลายตัวของเนื้อเยื่อไต

โปรตีนทำปฏิกิริยากับน้ำตาลในการหุงต้มอาหารจะได้สารประกอบสีน้ำตาล ซึ่งทำให้อาหารมีสีน้ำตาล เรียกว่า Browning reaction เช่น มันเผา ขนมปัง

โปรตีนตกตะกอนได้ง่ายเมื่อถูกสารละลายเกลือ สารละลายอัลคาลอยด์ กรดอนินทรีย์เข้มข้น แอลกอฮอล์ เกลือของโลหะหนัก รังสีอัลตราไวโอเลต รังสีเอกซ์ และความร้อน [9]

2.5. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (The estimation of protein content)

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่างมีหลายวิธี แต่ละวิธีมีขั้นตอนแตกต่างกัน ดังนั้นจึงเลือกวิธีที่ให้ผลการวิเคราะห์ถูกต้องและแม่นยำง่าย สะดวก ใช้เวลาน้อยและนิยมใช้กันโดยทั่วไปคือ

2.5.1 วิธีเจล์ดาห์ล

การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในสารอินทรีย์ โดยวิธีเจล์ดาห์ล ได้มีการพัฒนาขึ้นมาในปี 1883 โดยใช้หลักการ acid / base titration วิธีการนี้ไม่ได้ใช้เครื่องมือที่พิเศษและได้ถูกใช้เป็นงานประจำในการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีปริมาณมาก วิธีนี้ใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการหาปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ใน ข้าว เนื้อ และสารหรือตัวอย่างทางชีวภาพอื่นๆ โปรตีนส่วนมากจะมีเปอร์เซนต์ของไนโตรเจนเท่าๆกัน ในการคำนวณจะใช้ แฟคเตอร์ เข้ามาคูณด้วยโดยใช้แฟคเตอร์ 6.25 สำหรับเนื้อ 6.38 สำหรับผลิตภัณฑ์จากนม และ 5.7 สำหรับธัญพืช

ในวิธีเจล์ดาห์ล โปรตีนจะถูกย่อยสลายสารตัวอย่างด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc sulfuric acid) ที่อุณหภูมิสูงเพื่อเปลี่ยนไนโตรเจนในรูปต่างๆ ไปเป็น แอมโมเนียมไอออน เมื่อปล่อยให้เย็น และเจือจางแล้วทำให้เป็นด่างด้วยด่างแก่ที่มีปริมาณมากเกินพอ แอมโมเนียจะหลุดออกมา จากนั้นจะใช้สารละลายกรดในการตรวจสอบและหาปริมาณโดยวิธี neutralization titration

จุดสำคัญของวิธีเจล์ดาห์ล ก็คือ การย่อยสลายด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นซึ่งจะเป็นการออกซิเดชั่นของธาตุ คาร์บอนและ ไฮโดรเจนในสารตัวอย่างไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และ น้ำ แต่อย่างไรก็ตามการย่อยสลายจะขึ้นกับสถานะหรือลักษณะการรวมตัวของไนโตรเจนที่อยู่ในสารตัวอย่าง แอมีน และ แอไมด์ ไนโตรเจน สามารถหาปริมาณได้โดยเปลี่ยนเป็น แอมโมเนียมไอออน ในทางตรงกันข้ามไนโตรเอโซ และ เอโซซีไนโตรเจน จะให้ ยีลด์ที่คล้ายๆกันกับธาตุไนโตรเจน หรือ ออกไซด์ของไนโตรเจน ต่างๆ ซึ่งทั้งหมดจะสูญเสียในสภาวะที่มีกรดร้อน สามารถหลีกเลี่ยงได้โดยการเตรียมตัวอย่างก่อนที่จะนำมาทำการทดลองด้วยการใช้ รีดิวส์ซิ่งเอเจนต์ เพื่อแยกสารผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็น แอไมด์หรือ แอมีนไนโตรเจน หนึ่งในวิธีการที่มีการทำ prereduction ก็คือใช้ salicylic acid และ sodium thiosulfate เติมลงไปในตัวอย่างที่มีกรดซัลฟิวริกเข้มข้น เพื่อช่วยให้เวลาที่ใช้ในการย่อยสลายน้อยลง (digestion) และมีประสิทธิภาพมากขึ้น

สารประกอบอะโรมาติก เช่น ไพรีดีนและอนุพันธ์ของมันจะมีส่วนทำให้การย่อยสลายด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นไม่สมบูรณ์ มีการดัดแปลงวิธีการดั้งเดิมเพื่อต้องการใช้เวลาในการย่อยสลายน้อยลงซึ่งคิดค้นขึ้นมาโดย Gunning ปัจจุบันเป็นวิธีที่มีการใช้งานอย่างกว้างขวางคือ neutral salt เช่น potassium sulphate ใช้เติมเพื่อเพิ่มจุดเดือดของสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นต้องทำอย่างระมัดระวังเพราะว่าอาจจะมีการออกซิเดชั่นของแอมโมเนียมไอออน เกิดขึ้นและอาจมีการเกิดไอของกรดระหว่างการย่อยสลาย

มีการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาหลายตัวในการย่อยสลายพวกสารอินทรีย์ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น พวก Hg,Cu และSe ไม่ว่าจะอยู่ในรูปที่เป็นสารประกอบหรือเป็นธาตุต่างก็มีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาปรอท(II) จะตกตะกอนได้ด้วย ไฮโดรเจนซัลไฟด์ในระหว่างการกลั่นและเป็นการป้องกันแอมโมเนียให้คงอยู่ได้นานๆโดยการเกิดเป็น mercury(II)amine complex

หลังการย่อยสลายสมบูรณ์องค์ประกอบในขวดแก้วควรทำให้เย็น เจือจางด้วยน้ำกลั่นและทำให้เป็นด่างเพื่อให้แอมโมเนียออกมาดังสมการ

$$NH^{+}_{4} + OH^{-} \rightleftharpoons NH_3 + H_2O$$

ปกติในการเลือกและหาปริมาณของ แอมโมเนียที่หลุดออกมาจากตัวอย่างหนึ่งๆนั้นคือแอมโมเนียจะถูกกลั่นภายในปริมาตรที่แน่นอนของกรดมาตรฐาน หลังการกลั่นสมบูรณ์ปริมาณของกรดที่เหลือจะทำการ back-titration ด้วยสารละลายด่างมาตรฐานและอินดิเคเตอร์ที่ใช้ต้องอยู่ในช่วง

ของกรดเพราะว่าความเป็นกรดของแอมโมเนียมไอออนจะปรากฏที่สมมูลโดยใช้กรดบอริก (boric acid) โดยการคงแอมโมเนียไว้ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$H_3BO_3 + NH_3 \rightleftharpoons NH_4^+ + H_2BO_3^-$$

Dihydrogen borate นั้นจะเป็นด่างแก่ที่สามารถไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานของกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ปฏิกิริยาเกิดขึ้นดังนี้

$$H_2BO_3^- + H_3O^+ \longrightarrow H_3BO_3 + H_2O$$

ที่จุดสมมูล สารละลายจะประกอบด้วย กรดบอริก และ แอมโมเนียมไอออน ส่วนอินดิเคเตอร์ที่ใช้เช่น Mixed indicator, bromocresol green [9,10,11,12,13]

2.5.2 วิธีไบยูเรต

โมเลกุลของสารอินทรีย์ซึ่งมีโครโมฟอร์บางชนิดที่สามารถให้สเปกตรัมที่เกิดจากการดูดกลืนแสงในช่วงวิสิเบิลได้ สเปกตรัมจะแสดงสมบัติโดยเฉพาะของสารนั้นๆ ซึ่งนำไปวิเคราะห์สารที่บริสุทธิ์ได้โดยการเปรียบเทียบ λ_{max} และ ε_{max} ในการวิเคราะห์สาร โดยศึกษาสเปกตรัมจากช่วงวิสิเบิล วิธีไบยูเรตเป็นวิธีที่ใช้หาปริมาณของโปรตีน โดยการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน Cu^{2+} ที่ตำแหน่งของพันธะเปปไทด์ และจะเกิดขึ้นที่ตำแหน่งของพันธะเปปไทด์ตั้งแต่ 2 ตำแหน่งขึ้นไปโดยสังเกตที่สีม่วงของสารประกอบเชิงซ้อน ค่าการดูดกลืนแสงของ Cu^{2+} ของโปรตีนวัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานเพื่อคำนวณหาปริมาณของโปรตีนต่อไป [14] แม้ว่าในปัจจุบันนี้จะมีการพัฒนาเทคนิคต่างๆ เพื่อการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีเจล์ดาห์ล ก็ยังเป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมมากในการวิเคราะห์หาปริมาณของโปรตีนในตัวอย่าง

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Mettila et al. [15] ได้ศึกษาองค์ประกอบพื้นฐานที่มีในเห็ดที่เพาะในประเทศฟินแลนด์ เช่น ความชื้น ปริมาณคาร์โบไฮเดรต เส้นใยอาหาร ไขมัน และโปรตีนในรูปของ Crude ไนโตรเจน โดยใช้วิธีเจล์ดาห์ล ในการหาปริมาณรวมของไนโตรเจน

วรากรและคณะ [16] ได้ศึกษาไขมัน และโปรตีน จากแมลงที่ประชาชนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยบริโภคเป็นอาหารมากกว่า 50 ชนิด โดยใช้วิธีเจล์ดาห์ล พบว่ามีจำนวนที่พอเหมาะกับการแก้ปัญหาโภชนาการได้

สุทธิ ภมรสมิต [17] ปริมาณโปรตีนในแมลง ที่ประชาชนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยนิยมบริโภคโดยวิธีเจล์ดาห์ลและไบยูเรต พบว่าแมลงแต่ละชนิดมีปริมาณที่แตกต่างกันและการละลายของโปรตีนในแมลงละลายได้ดีในสารละลายที่เป็นด่างคิดเป็นร้อยละมากกว่า 83

สุทธิ ภมรสมิต [17] ปริมาณโปรตีนในแมลง ที่ประชาชนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยนิยมบริโภคโดยวิธีเจล์ดาห์ลและไบยูเรต พบว่าแมลงแต่ละชนิดมีปริมาณที่แตกต่างกันและการละลายของโปรตีนในแมลงละลายได้ดีในสารละลายที่เป็นด่างคิดเป็นร้อยละมากกว่า 83

Valle and Mena [18] ศึกษาคุณค่าทางอาหารของตัวอ่อนของแมลงวันผลไม้โดยวิธีเจล์ดาห์ล พบว่ามีคุณสมบัติเกี่ยวกับโปรตีนในระดับปานกลางเมื่อเทียบกับอาหารโปรตีนจากสัตว์อื่น แต่ก็ดีกว่าอาหารโปรตีนที่ทำมาจากเมล็ดพืชตระกูลถั่ว

Borror [19] ศึกษาปริมาณโปรตีนจากปลวก ดักแด้ ไหมและ ตั๊กแตนโดยวิธีเจล์ดาห์ล พบว่ามีปริมาณโปรตีนและแคลอรีสูง แต่มิได้สรุปเกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนาการในรูปแบบอื่น

พงศ์ธร และประภาศรี [3] หาปริมาณโปรตีนในแมลงที่ได้จากการวิเคราะห์โดยวิธีเจล์ดาห์ล พบว่ามีโปรตีนมากพอที่จะสนับสนุนให้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนของชาวชนบทได้

สุเทพ อุสาหะและคณะ [20] วิเคราะห์หาคุณภาพและปริมาณโปรตีนจากแมลงที่ได้โดยวิธีเจล์ดาห์ล พบว่ามีคุณค่าทางอาหารค่อนข้างสูงและนำไปบริโภคแทนเนื้อสัตว์ชนิดอื่นได้

บทที่ 3
การทดลอง

ในการศึกษาและวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนได้ใช้วิธีเจล์ดาห์ล และวิธีไบยูเรตซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

3.1.1.1 93-98% Sulfuric acid

3.1.1.2 Potassium sulfate

3.1.1.3 Hexane

3.1.1.4 Copper sulfate

3.1.1.5 50% Sodium hydroxide

3.1.1.6 Biuret reagent

3.1.1.7 Albumine from bovine serum

3.1.1.8 0.1 M Hydrochloric acid

3.1.1.9 Copper

3.1.1.10 4% Boric acid

3.1.1.11 12 M Hydrochloric acid

3.1.2 อุปกรณ์

3.1.2.1 Kjeldatherm

3.1.2.2 Soxhlet apparatus

3.1.2.3 UV-Visible Spectroscopy

3.2. เตรียมสารตัวอย่าง

แมงป่องช้างตัวเต็มวัยความยาว 10-12 เซนติเมตร จากชาวบ้านคำกลาง อำเภอเมือง จังหวัดอำนาจเจริญ นำไปทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาด ทำให้ตาย ปล่อยให้แห้งสนิท อบให้แห้ง

ด้วยเครื่องอบ ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมงทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องบดด้วยเครื่องปั่นให้ละเอียด นำส่วนที่บดไปอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสเวลา 1 ชั่วโมงแล้วเก็บในเดซิคเคเตอร์ เพื่อใช้วิเคราะห์ต่อไป

3.3. วิธีทำการทดลอง

3.3.1 การไขมันด้วยวิธีซอกห์เลต

ชั่งสารตัวอย่างที่บดละเอียด สกัดไขมันด้วยเครื่องซอกห์เลต ใช้สารละลายเฮกเซนเป็นตัวทำละลายใช้เวลา 4 ชั่วโมง นำผงแมงป่องช้างที่สกัดไขมันอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสจนแห้งสนิทชั่งน้ำหนักที่ได้ นำสารละลายที่สกัดไประเหยตัวทำละลายจนหมด ชั่งน้ำหนักของสารเพื่อทราบปริมาณไขมันที่สกัดได้

3.3.2 การวิเคราะห์ด้วยวิธีเจล์ดาห์ล

นำผงแมงป่องช้างที่บดแห้งสนิท ชั่งประมาณ 0.40 กรัม ใส่เข้าไปใน digesting tube ค่อยๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นจำนวน 20 มิลลิลิตรใส่ตัวเร่งปฏิกิริยา (K_2SO_4:$CuSO_4$:Cu อัตราส่วน 100:10:1) จำนวน 4.00 กรัม (ใส่ boiling chip เพื่อไม่ให้หลอดร้อนจนเกินไป) [6,21] นำไปย่อยด้วยเครื่องย่อย ที่อุณหภูมิประมาณ 370 องศาเซลเซียส นานประมาณ 6 ชั่วโมง โดยสารละลายเริ่มเปลี่ยนเป็นสารละลายสีส้ม เหลือง เหลืองอ่อน และสีฟ้าใส ซึ่งเป็นสีที่ย่อยสลายแบบสมบูรณ์ตามลำดับ ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องเติมน้ำกลั่นจำนวน 100 มิลลิลิตร ลงในสารละลายที่ได้และเติม โซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นโดยเติมช้าๆในปริมาณที่มากเกินพอ (ทำในตู้ Hood เพราะเกิดปฏิกิริยาเร็ว) สารละลายที่ได้จะมีสภาพเป็นด่าง (ทดสอบด้วยฟีนอฟทาลีน) นำไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่นแอมโมเนีย ใส่กรดบอริก 4 % จำนวน 50 มิลลิลิตรในขวดแก้ว และ หยดอินดิเคเตอร์ผสมระหว่างเมธิลเรดและเมธิลลีนบลู อัตราส่วน 2:1 จำนวน 2 หยด ในที่รองรับแอมโมเนียจากเครื่องกลั่นแอมโมเนียใช้เวลาในการกลั่น ประมาณ 5-7 นาที สังเกตสีของสารละลายในขวดแก้วนำสารละลายที่ได้ไปไทเทรตหาปริมาณของไนโตรเจนกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีชมพู บันทึกปริมาตรของกรดที่ใช้ (ทำซ้ำโดยเปลี่ยนน้ำหนักตัวอย่างเป็น 0.6 และ0.8 กรัม และทำซ้ำจำนวน 3-4 ครั้ง) นำปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริก ที่ใช้ในการไทเทรต คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนโดยใช้สูตร

$$\% \text{ ไนโตรเจน} = \frac{\text{ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไป} \times 1.4}{\text{น้ำหนักกรัมของสารตัวอย่าง}}$$

คำนวณหาปริมาณโปรตีนโดยใช้ Factor of cerial 6.25

$$\% \text{ โปรตีน} = \% \text{ไนโตรเจน} \times 6.25$$

3.4. การวิเคราะห์หาโปรตีนโดยใช้วิธีไบยูเรต

เตรียมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 1,000 พีพีเอ็ม (โดยชั่งอัลบูมิน1.00 กรัม ละลายน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร) เตรียมสารละลายมาตรฐานจำนวน 100 มิลลิลิตรให้มีความเข้มข้น 0, 50 ,100 ,200 ,400 และ 800 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ตวงสารละลายแต่ละความเข้มข้นจำนวน 20 มิลลิลิตรปรับปริมาตรเป็น 30 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายไบยูเรตโดยกวนให้เข้ากันทิ้งไว้ 20 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เพื่อทำกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลายแมงป่องช้าง โดยชั่งผงแมงป่องช้างที่ไม่สกัดไขมันจำนวน 0.40 กรัม ละลายน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ปรับพีเอชเท่ากับ 12 โดยใช้ 50 เปอร์เซนต์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ และกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 12 โมลาร์ กวนสารละลายด้วยแมกเนติกสเตอร์เรอ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลานาน 30 นาที แล้วนำไปแยกส่วนที่ไม่ละลายโดยใช้เครื่อง เหวี่ยงหนีศูนย์กลางในอัตรา 5,000 rpm เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปกรอง ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายแมงป่องช้างจำนวน 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 20 มิลลิลิตรด้วย สารละลายไบยูเรตทิ้งไว้ 20 นาที นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง สเปกโตรโฟโต มิเตอร์และอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร (ทำซ้ำโดยเปลี่ยนน้ำหนักของ ตัวอย่างเป็น 0.6 กรัม และ0.8 กรัม ทำซ้ำจำนวน 3-4 ครั้ง [14])

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณไขมันจากแมงป่องช้างโดยวิธีซอกห์เลต

แมงป่องช้างแห้งที่บดละเอียดนำไปสกัดไขมันด้วยสารละลายเฮกเซนได้ปริมาณไขมันเฉลี่ยเท่ากับ 14.3 เปอร์เซนต์ (ตาราง 4.1)

ตารางที่ 4.1 ปริมาณไขมันของผงแมงป่องช้าง

น้ำหนักตัวอย่างก่อนสกัดไขมัน (กรัม)	น้ำหนักตัวอย่างหลังสกัดไขมัน (กรัม)	น้ำหนักไขมัน (กรัม)	ร้อยละของไขมัน
5.8748	5.0592	0.8156	13.9
4.9628	4.2454	0.7170	14.4
5.1566	4.4033	0.7535	14.6
$\overline{X}$			14.3
SD			0.2

4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนจากแมงป่องช้างโดยวิธีเจล์ดาห์ล

4.2.1 ผลของตัวเร่งปฏิกิริยาต่อปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้างที่สกัดและไม่สกัดไขมัน

ตารางที่ 4.2 ปริมาณโปรตีนของแมงป่องช้างที่สกัดไขมันและไม่สกัดไขมันเมื่อใช้สารตัวอย่าง 0.2 กรัม กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตร เวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย 6 ชั่วโมง เมื่อเปลี่ยนแปลงปริมาณของตัวเร่งปฏิกิริยา

ตัวเร่งปฏิกิริยา (กรัม)	โปรตีนจากสารตัวอย่างสกัดไขมัน (% ± SD)	โปรตีนจากสารตัวอย่างที่ไม่สกัดไขมัน (% ± SD)	สีของสารละลาย
2	57.3 ± 1.0	57.8 ± 0.4	สีส้ม
4	61.2 ± 0.2	61.8 ± 0.4	สีเหลืองอ่อน
6	58.9 ± 0.7	57.8 ± 0.3	สีส้ม
8	58.7 ± 0.5	58.0 ± 0.1	สีส้ม

จากตารางที่ 4.2 พบว่าเมื่อใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาจำนวน 2.0,4.0, 6.0และ8.0 กรัมเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างที่สกัดไขมันจำนวน 0.2 กรัมได้สารละลายตัวอย่างสีส้ม,สีเหลืองและสีส้มตามลำดับ แสดงว่าปฏิกิริยาการย่อยสลายเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ และให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ57.3 , 61.2 , 58.9 และ 58.7 ตามลำดับ สำหรับสารตัวอย่างที่ไม่สกัดไขมันเมื่อย่อยสลายจะได้สารละลายที่มีสีใกล้เคียงกันกับสารตัวอย่างที่สกัดไขมันโดยปฏิกิริยาการย่อยสลายเกิดขึ้นดังนี้

$$\text{Organic sample} + H_2SO_4 \xrightarrow[\text{catalyst}]{\text{Heat}} CO_2 + H_2O + (NH_4)_2SO_4 , NH_4HSO_4$$

เมื่อปฏิกิริยาเกิดขึ้นสมบูรณ์จะได้สารละลายสีฟ้าใส ของ สารประกอบเชิงซ้อนของแอมีน และทำให้สารละลายสะเทินด้วยเบส ดังสมการ

$$NH_4HSO_4 + 2NaOH \longrightarrow NH_3 + Na_2SO_4 + H_2O$$

เมื่อกลั่นจะได้สารละลายสีเขียวเกิดขึ้นดังสมการ

$$NH_3 + H_3BO_3 \longrightarrow NH_4H_2BO_3$$

$NH_4H_2BO_3$ ซึ่งเป็นสารละลายสีเขียวเมื่อไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน ได้สารละลายสีชมพูและได้ปริมาณของไนโตรเจนในรูปของก๊าซแอมโมเนีย ซึ่งนำไปหาปริมาณโปรตีนจากสารตัวอย่างดังสมการ

$$NH_3 + HCl \longrightarrow NH_4Cl$$

จากผลการทดลองจะเห็นว่าปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยาที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารตัวอย่างดังกล่าวให้ร้อยละของโปรตีนมีปริมาณใกล้เคียงกันแสดงว่า ไขมันไม่มีผลต่อการหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีเจล์ดาห์ลอย่างมีนัยสำคัญ

ดังนั้นปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยาที่เหมาะสมซึ่งมีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายโปรตีนจากผงแมงป่องช้างได้ปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 4.0 กรัมจำนวนตัวเร่งปฏิกิริยาดังกล่าวจะใช้ในการทดลองครั้งต่อไป

4.2.2 ผลของน้ำหนักสารตัวอย่างต่อการหาปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้าง

ตารางที่ 4.3 ปริมาณโปรตีนของแมงป่องช้างเมื่อใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัมกรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตร เวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย 6 ชั่วโมง เมื่อเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของแมงป่องช้าง

น้ำหนักสารตัวอย่าง (กรัม)	ปริมาณโปรตีน (%± SD)	สีของสารละลาย
0.2	61.1± 0.2	สีฟ้าใส
0.4	65.7± 0.4	สีฟ้าใส
0.6	60.8± 0.5	สีเหลือง
0.8	59.6± 0.5	สีส้ม

จากตาราง 4.3 พบว่า เมื่อใช้ปริมาณสารตัวอย่าง 0.2 กรัม และ 0.4 กรัม เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายแบบสมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนคิดเป็นร้อยละ 61.7 และ 65.5 ส่วนน้ำหนักสารตัวอย่าง 0.6 และ0.8 กรัม เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายได้สารละลายสีเหลือง แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายไม่สมบูรณ์ให้ปริมาณโปรตีนคิดเป็นร้อยละ 60.4 และ 60.3 ตามลำดับ จากตารางจะเห็นว่าน้ำหนักสารตัวอย่าง 0.2 กรัม และ 0.4 กรัม ได้สารละลายสีฟ้าใสเหมือนกัน ซึ่งเป็นสีที่แสดงถึงการย่อยสลายที่สมบูรณ์แต่ปริมาณโปรตีนที่ได้ต่างกัน เนื่องจากน้ำหนักสารตัวอย่าง 0.2 กรัม ซึ่งมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับตัวย่อยสลาย 20 มิลลิลิตร ในขณะที่อุณหภูมิกำลังเพิ่มขึ้นไนโตรเจนในสารตัวอย่างและกรดซัลฟิวริก จะทำปฏิกิริยาออกซิเดชั่นอย่างรุนแรง ทำให้ไนโตรเจนสูญเสียไปในรูปของก๊าซแอมโมเนีย และสูญเสียกรดซัลฟิวริกบางส่วน ส่วนน้ำหนักสารตัวอย่าง 0.4 กรัม มีปริมาณมากพอกับตัวย่อยสลาย 20 ml ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจึงไม่รุนแรงและเกิดเป็น $(NH_4)_2SO_4$ และNH_4HSO_4 ก่อนที่แอมโมเนียจะระเหยไป เมื่อปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ จึงได้ปริมาณโปรตีนมาก ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า น้ำหนักสารตัวอย่างที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนและให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 0.4 กรัม เมื่อเพิ่มน้ำหนักสารตัวอย่างปริมาณโปรตีนที่ได้มีแนวโน้มลดลง เพราะปริมาณกรดซัลฟิวริกมีไม่เพียงพอต่อการย่อยสลาย

4.2.3 ผลของกรดซัลฟิวริกต่อการหาปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้าง

ตารางที่ 4.4 ปริมาณโปรตีนของแมงป่องช้างเมื่อใช้น้ำหนักสารตัวอย่าง 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม เวลาที่ใช้ย่อยสลาย 6 ชั่วโมง เมื่อเปลี่ยนแปลงปริมาณของกรดซัลฟิวริก

ปริมาณกรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ปริมาณโปรตีน (% ± SD)	สีของสารละลาย
15	59.2 ± 0.3	สีส้ม
20	65.3 ± 0.4	สีฟ้าใส
25	65.4 ± 0.4	สีฟ้าใส

จากตารางที่ 4.4 พบว่าเมื่อใช้ปริมาณกรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตร เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีส้ม แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายไม่สมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 59.2 เมื่อเพิ่มปริมาณกรดซัลฟิวริกเป็น 20 มิลลิลิตร เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.3 แต่เมื่อเพิ่มกรดซัลฟิวริกเป็น 25 มิลลิลิตร เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่าง ได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ ได้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.4 ทั้งนี้เนื่องจากกรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตร มีปริมาณไม่เพียงพอต่อการย่อยสลายโปรตีนจึงทำให้ได้ปริมาณโปรตีนร้อยละ 59.2 ส่วนปริมาณกรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรและ 25 มิลลิลิตรมีปริมาณเพียงพอจึงย่อยสลายสารตัวอย่างได้สมบูรณ์จึงได้ปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกัน

ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าปริมาณน้อยที่สุดที่ย่อยสลายและได้โปรตีนสูงสุดคือปริมาณกรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรและน้ำหนักตัวอย่างจำนวน 0.4 กรัม

ตารางที่ 4.5 ปริมาณโปรตีนของแมงป่องช้างเมื่อใช้น้ำหนักสารตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และเวลาที่ใช้ย่อยสลาย 6 ชั่วโมงเมื่อเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดซัลฟิวริก

ปริมาณกรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ปริมาณโปรตีน (% ± SD)	สีของสารละลาย
20	60.8 ± 0.5	สีเหลือง
25	65.4 ± 0.4	สีฟ้าใส

จากตารางที่ 4.5 พบว่าเมื่อใช้ปริมาณกรดซัลฟิวริกเป็น20 มิลลิลิตร เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายมีสีเหลือง แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายไม่สมบูรณ์ ให้

ประมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 60.8 แต่เมื่อเพิ่มกรดซัลฟิวริกเป็น 25 มิลลิลิตร เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.5 ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าปริมาณกรดซัลฟิวริก มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักสารตัวอย่าง

ตารางที่ 4.6 ปริมาณโปรตีนของแมงป่องช้างเมื่อใช้น้ำหนักสารตัวอย่าง 0.8 กรัมตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม เวลาที่ใช้ย่อยสลาย 6 ชั่วโมง เมื่อเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดซัลฟิวริก

ปริมาณกรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ปริมาณโปรตีน (%± SD)	สีของสารละลาย
20	59.9± 0.4	สีส้ม
25	62.9± 0.3	สีเหลือง

จากตารางที่ 4.6 พบว่าเมื่อใช้ปริมาณกรดซัลฟิวริกเป็น 20 มิลลิลิตร เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีเหลือง แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายไม่สมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 59.9 แต่เมื่อเพิ่มกรดซัลฟิวริกเป็น 25 มิลลิลิตร เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีเหลืองอ่อน แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายไม่สมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนร้อยละ 62.9 ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณสารตัวอย่างมีปริมาณมาก ทำให้กรดซัลฟิวริกมีไม่เพียงพอต่อการย่อยสลายนอกจากนั้นเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายอาจน้อยเกินไป

4.2.3 ผลของเวลาและกรดซัลฟิวริกกับการย่อยสลายสารตัวอย่างต่อการหาปริมาโปรตีนในแมงป่องช้าง

ตารางที่ 4.7 เวลาในการย่อยสลายโปรตีนในแมงป่องช้างเมื่อใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัมกรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตร เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารตัวอย่างและเวลา

น้ำหนักสารตัวอย่าง (กรัม)	ปริมาณโปรตีน (%± SD)		
	6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	10 ชั่วโมง
0.4	65.7± 0.4	65.7± 0.1	65.3± 0.3
0.6	60.8± 0.5	65.3± 0.3	65.7± 0.4
0.8	59.6± 0.5	62.9± 0.3	65.7± 0.1

จากตารางที่ 4.7 พบว่าเมื่อใช้ น้ำหนักของสารตัวอย่าง 0.4 กรัมในเวลา 6 ชั่วโมง เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.7 เมื่อใช้เวลาเป็น 8 ชั่วโมง เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.7 และเมื่อเพิ่มเวลาเป็น 10 ชั่วโมง เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.3 เมื่อเพิ่มน้ำหนักสารตัวอย่างเป็น 0.6 กรัมในเวลา 6 ชั่วโมง เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีเหลือง แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายไม่สมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 60.8 เมื่อใช้เวลาเป็น 8 ชั่วโมงเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.3 เมื่อใช้เวลาเป็น 10 ชั่วโมง เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.7 เมื่อน้ำหนักสารตัวอย่างเพิ่มขึ้นเป็น 0.8 กรัมในเวลา 6 ชั่วโมง เกิดปฏิกิริยาย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีส้ม แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายไม่สมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 59.6 เมื่อใช้เวลาเป็น 8 ชั่วโมงเกิดปฏิกิริยาย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีเหลือง แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายไม่สมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 62.9 เมื่อเพิ่มเวลาเป็น 10 ชั่วโมงเกิดปฏิกิริยาย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.7 ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าเมื่อเกิดปฏิริยาการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์โดยน้ำหนักสารตัวอย่างเท่าเดิม การเพิ่มเวลาจะไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีน และยังพบว่าเมื่อสารตัวอย่างเพิ่มขึ้น เวลาที่ใช้ย่อยสลายก็เพิ่มขึ้นปฏิกิริยาจึงเกิดสมบูรณ์

ตารางที่ 4.8 เวลาในการย่อยสลายโปรตีนของแมงป่องช้างเมื่อใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตร เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารตัวอย่างและเวลา

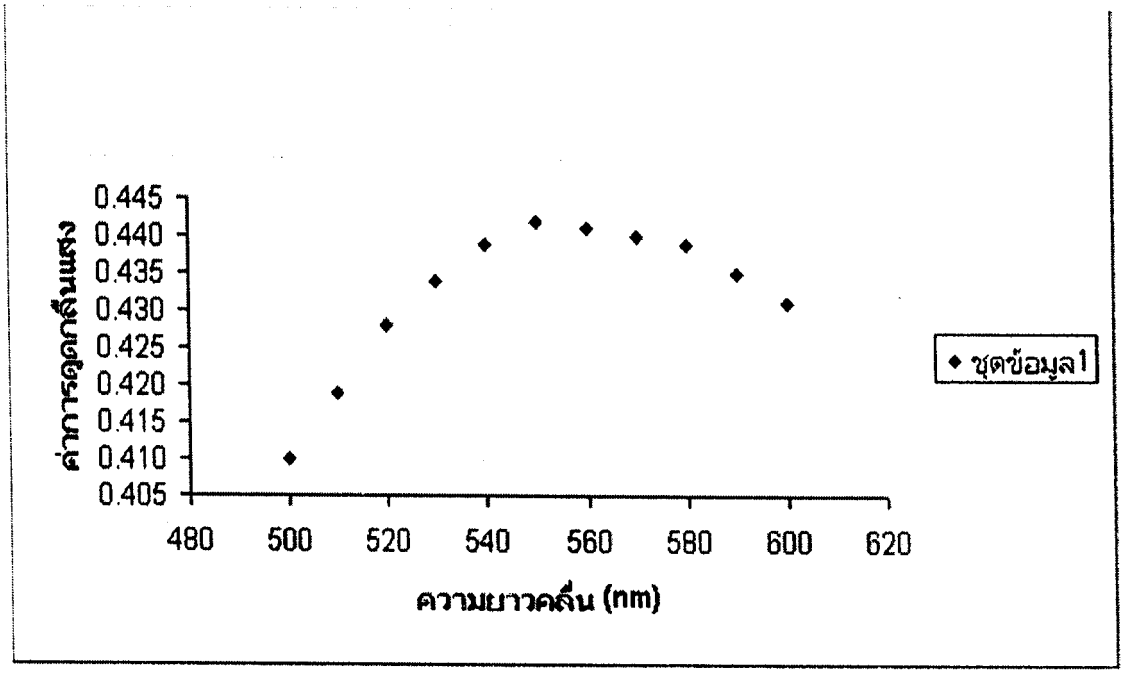
น้ำหนักสารตัวอย่าง (กรัม)	ปริมาณโปรตีน (%± SD)		
	6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	10 ชั่วโมง
0.4	65.8± 0.3	65.5± 0.2	65.7± 0.1
0.6	65.4± 0.4	65.8± 0.4	65.6± 0.2
0.8	62.9± 0.3	65.5± 0.2	65.8± 0.4

จากตารางที่ 4.8 พบว่าเมื่อใช้ปริมาณน้ำหนักของสารตัวอย่าง 0.4 กรัมในเวลา 6 ชั่วโมง เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.8 เมื่อใช้เวลาเป็น 8 ชั่วโมง เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.5 เมื่อใช้เวลาเป็น 10 ชั่วโมง ได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.7 เมื่อเพิ่มน้ำหนักของสารตัวอย่างเป็น 0.6 กรัมในเวลา 6 ชั่วโมง เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.4 เมื่อใช้เวลาเป็น 8 ชั่วโมง เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.8 เมื่อใช้เวลาเป็น 10 ชั่วโมง เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.6 ถ้าเพิ่มน้ำหนักสารตัวอย่างเป็น 0.8 กรัมในเวลา 6 ชั่วโมง เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีเหลือง แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายไม่สมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 62.9 เมื่อใช้เวลาเป็น 8 ชั่วโมง เกิดปฏิกิริยาการย่อยสารตัวอย่างได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.5 เมื่อเพิ่มเวลาเป็น 10 ชั่วโมง เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตัวอย่างได้สารละลายสีฟ้าใส แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสมบูรณ์ ให้ปริมาณโปรตีนเป็นร้อยละ 65.8 ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า เมื่อน้ำหนักสารตัวอย่างเพิ่มขึ้น ปริมาณกรดซัลฟิวริกก็เพิ่มขึ้น ปฏิกิริยาการย่อยสลายเกิดสมบูรณ์ทำให้เวลาในการย่อยลดลง ฉะนั้นปริมาณโปรตีนจากผงแมงป่องช้างอบแห้งที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีเจล์ดาห์ล จะเห็นว่าไขมันจากสารตัวอย่างไม่มีผลต่อการหาปริมาณโปรตีน จึงให้โปรตีนเฉลี่ยเท่ากับ 65% หรือคิดเป็น 0.26 กรัมต่อน้ำหนักสารตัวอย่างอบแห้ง

4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรต

ตารางที่ 4.9 การดูดกลืนแสงของสารละลายแมงป่องช้างตั้งแต่ความยาวคลื่น 500-600 นาโนเมตร

ช่วงความยาวคลื่นของแสง (นาโนเมตร)	ค่าการดูดกลืนแสง
500	0.413
510	0.421
520	0.429
530	0.438
540	0.439
550	0.442
560	0.441
570	0.441
580	0.439
590	0.436
600	0.432



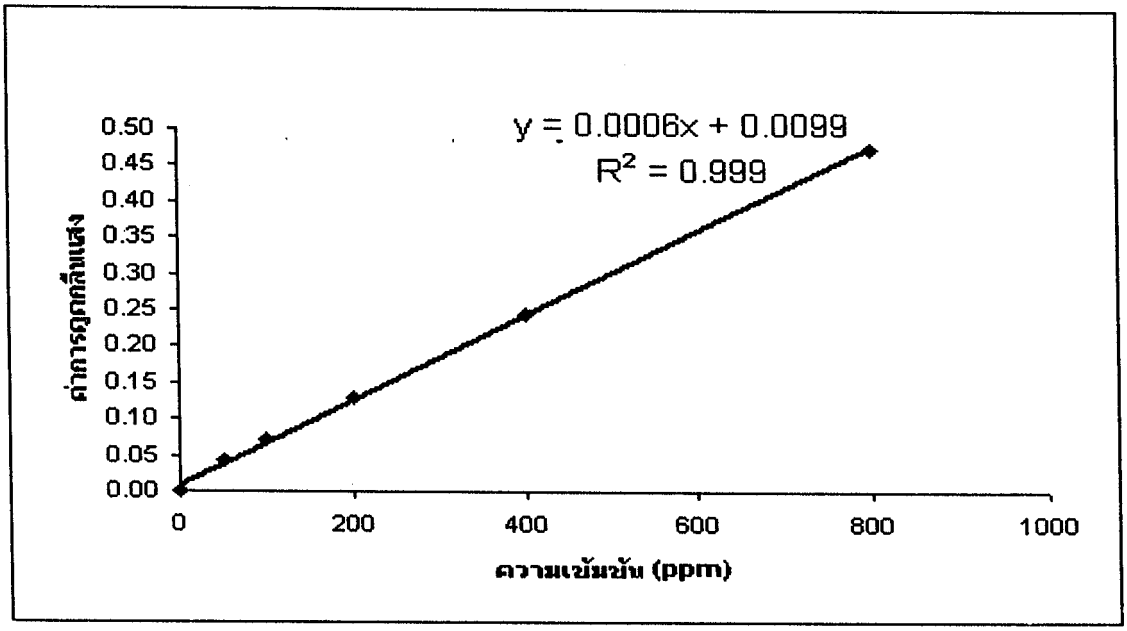
ภาพที่ 4.1 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างแมงป่องช้างที่ความยาวคลื่นต่างๆ

จากตารางที่ 4.9 กราฟที่ 4.1 การดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างแมงป่องช้างที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตรได้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเท่ากับ 0.442

ตารางที่ 4.10 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานอัลบูมินที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

Standard	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสง
blank	0.00	0.000
1	50	0.043
2	100	0.073
3	200	0.128
4	400	0.245
5	800	0.474

จากตารางที่ 4.10 แสดงความเข้มข้นของอัลบูมินและ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร สามารถสร้างกราฟมาตรฐานได้โดย แกน X คือ ความเข้มข้นของอัลบูมิน (ppm) และ แกนY คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ดังภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 การดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายอัลบูมินที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

จากกราฟที่ 4.2 ค่าความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายอัลบูมินอ่านค่าที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตรได้จากสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานดังนี้

$Y = 0.0006X - 0.0099$

เมื่อ Y คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

X คือ ปริมาณของสารตัวอย่าง (ppm)

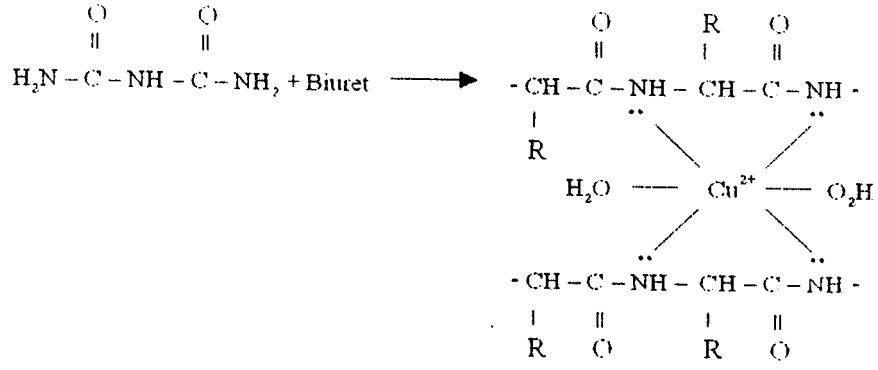
R^2 คือ ค่าความแปรปรวน ที่แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นของข้อมูล

ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ได้โดยวัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร แทนค่าในสมการเส้นตรงของสารละลายมาตรฐาน

ตารางที่ 4.11 ค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณโปรตีนของแมงป่องช้างโดยวิธีไบยูเรต

น้ำหนักสารตัวอย่าง (กรัม)	ค่าการดูดกลืนแสง		โปรตีน (%)	
	สกัดไขมัน	ไม่สกัดไขมัน	สกัดไขมัน (%)	ไม่สกัดไขมัน (%)
0.4	0.442 ± 0.001	0.529 ± 0.02	36.6 ± 0.09	43.3 ± 1.76
0.6	0.651 ± 0.004	0.805 ± 0.02	35.6 ± 0.04	44.1 ± 1.24
0.8	0.872 ± 0.009	1.027 ± 0.04	35.9 ± 0.04	42.4 ± 1.92

จากตารางที่ 4.11 พบว่าเมื่อใช้ปริมาณสารละลายของตัวอย่างที่สกัดไขมันจำนวน 0.4 กรัม มีปริมาณโปรตีนได้เท่ากับร้อยละ 36.6 แต่เมื่อเพิ่มปริมาณสารละลายของตัวอย่างเป็น 0.6 กรัม ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้น มีปริมาณโปรตีนได้เท่ากับร้อยละ 35.6 เมื่อเพิ่มปริมาณสารละลายของตัวอย่างเป็น 0.8 กรัม ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มมากขึ้น มีปริมาณโปรตีนได้เท่ากับร้อยละ 35.9 ดังนั้นจะเห็นว่าค่าการดูดกลืนแสงมีค่าค่อนข้างคงที่และจะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณสารตัวอย่างเพิ่มขึ้นและจะได้ปริมาณโปรตีนเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 36 โดยน้ำหนัก ส่วนสารตัวอย่างที่ไม่สกัดไขมัน พบว่าปริมาณสารละลายของตัวอย่าง 0.4 กรัม มีปริมาณโปรตีนได้เท่ากับร้อยละ 43.3 เมื่อเพิ่มปริมาณสารละลายของตัวอย่างเป็น 0.6 กรัม มีปริมาณโปรตีนได้เท่ากับร้อยละ 44.1 เมื่อเพิ่มปริมาณสารละลายของตัวอย่างเป็น 0.8 กรัม มีปริมาณโปรตีนได้เท่ากับร้อยละ 42.4 จะเห็นว่า ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ไม่สกัดไขมันมีค่ามากและค่าที่อ่านได้จะไม่หยุดนิ่งทำให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่าสูง เพราะในขณะที่สารละลายเปปไทด์สร้างพันธะกับโลหะของคอปเปอร์(II) ไอออนเกิดเป็นตะกอนสีม่วงของสารประกอบเชิงซ้อนดังสมการ



ในขณะเดียวกันไขมันในสารตัวอย่างก็ทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการสลายไบยูเรตได้เกลือของโซเดียมคาร์บอกซิลเลตซึ่งไปทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่สกัดไขมันเพิ่มขึ้น ฉะนั้นจึงใช้ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่สกัดไขมันหาปริมาณโปรตีนได้ เนื่องมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานต่ำ และได้ปริมาณโปรตีนเฉลี่ยร้อยละ 36.0 หรือเท่ากับ 0.145 กรัม

ตารางที่ 4.12 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนจากสารตัวอย่างที่สกัดไขมันซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธีเจล์ดาห์ลและไบยูเรต

น้ำหนักสารตัวอย่าง (กรัม)	ปริมาณโปรตีน (กรัม)		เฉลี่ย (กรัม)
	วิธีเจล์ดาห์ล	วิธีไบยูเรต	
0.4	0.262	0.145	1.806
0.6	0.392	0.213	1.840
0.8	0.525	0.287	1.829

จากตาราง 4.12 พบว่าการวิเคราะห์ด้วยวิธีเจล์ดาห์ล เมื่อใช้น้ำหนักสารตัวอย่าง 0.4 , 0.6 และ 0.8 กรัม ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายแบบสมบูรณ์ เฉลี่ย 0.262 , 0.392 และ 0.525กรัม ตามลำดับ ส่วนวิธีไบยูเรตมีปริมาณโปรตีนเฉลี่ยเท่ากับ 0.145 , 0.213 และ 0.287 กรัม ตามลำดับ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า ปริมาณโปรตีนที่ได้จากวิธีเจล์ดาห์ลและไบยูเรตมีแนวโน้มเหมือนกัน คือ เมื่อน้ำหนักสารตัวอย่างเพิ่มขึ้น ปริมาณโปรตีนที่ได้เพิ่มขึ้นในอัตราส่วน 2 :1 ซึ่งอัตราส่วนดังกล่าวเป็นค่าคอนเวอร์ชั่นแฟคเตอร์ของโปรตีน

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเปรียบเทียบการหาปริมาณโปรตีนจากสารตัวอย่างแมงป่องช้าง โดยวิธีเจล์ดาห์ล และไบยูเรต พบว่า ปริมาณโปรตีนจากแมงป่องช้างที่สกัดไขมันและไม่สกัดไขมันด้วยวิธีเจล์ดาห์ลให้ปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกันแสดงว่าไขมันในแมงป่องช้างไม่มีผลต่อการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

ตารางที่ 5.1 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายอย่างสมบรณ์โดยวิธีเจล์ดาห์ล

น้ำหนักสารตัวอย่าง (กรัม)	น้ำหนักตัวเร่งปฏิกิริยา (กรัม)	ปริมาณกรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	เวลา (ชั่วโมง)	ร้อยละของโปรตีน	น้ำหนักของโปรตีน (กรัม)
0.4	4.0	20	6	65.7	0.262
0.6	4.0	25	6	65.4	0.392
0.8	4.0	25	8	65.5	0.524

จากตาราง 5.1 พบว่าน้ำหนักสารตัวอย่าง 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัมกรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตร เวลา 6 ชั่วโมง จะให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดเฉลี่ยร้อยละ 65.7 หรือคิดเป็นน้ำหนักของโปรตีนเท่ากับ 0.262 กรัม นอกจากนั้นยังพบว่าน้ำหนักสารตัวอย่างและกรดซัลฟิวริกจะเป็นสัดส่วนโดยตรงซึ่งกันและกัน คือ เมื่อน้ำหนักสารตัวอย่างเพิ่มขึ้นปริมาณกรดซัลฟิวริกก็เพิ่มขึ้นด้วยและจะมีผลทำให้สามารถสกัดปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น

ปริมาณโปรตีนที่ได้จากสารตัวอย่างแมงป่องช้างที่สกัดไขมันและไม่สกัดไขมันด้วยวิธีไบยูเรต พบว่า ค่ามาตรฐานของการเบี่ยงเบนการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่สกัดไขมันมีค่าต่ำ ได้ปริมาณโปรตีนร้อยละ 36 หรือ 0.145 กรัม ส่วนสารตัวอย่างที่ไม่สกัดไขมันให้ค่าการดูดกลืนแสงไม่คงที่จึงให้ปริมาณโปรตีนไม่แน่นอน ทั้งนี้อาจจะเนื่องไขมันทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์ในสารตัวอย่าง

ในการทดลองนี้ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธีเจล์ดาห์ลและไบยูเรตคิด เป็น 2:1 และเป็นค่าแสดงคอนเวอร์ชั่นแฟคเตอร์ของโปรตีนในแมงป่องช้าง

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการวิเคราะห์หาปริมาณสารชนิดอื่นในแมงป่องช้างนอกเหนือจากที่ได้ศึกษา คือ คาร์โบไฮเดรต เกลือแร่ วิตามิน และ ขี้เถ้า

5.2.2 ควรใช้วิธีอื่นวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนจากสารตัวอย่างนอกเหนือจากวิธี เจลดาห์ล และไบยูเรต เพื่อหาความถูกต้องและแม่นยำ

เอกสารอ้างอิง

[1] นันทวัน เอื้อวงศ์กุลและศักดา ดาดวง. "พิศวงแมงป่องช้าง." สารคดีชาว มข. ปีที่15 ฉบับที่ 227 มกราคม 2547 : คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2547.

[2] สมร ประทุมชาติ. "แมงป่องช้าง", เปิบพิสดาร. http://www.rdd.mcot.net/np,18 ตุลาคม, 2549.

[3] พงศ์ธร สังข์เผือกและประภา ภูวเสถียร. คุณค่าอาหารของแหล่งอาหารโปรตีนชาวชนบท, โภชนาการ, 2526.

[4] กลุ่มเกษตรกร จังหวัดชลบุรี. "แมงป่องช้าง", เมนูพิเศษ. http://www.nationejob.com, 12 มิถุนายน,2548.

[5] โสภณ เริงสำราญและคณะ. อินทรีย์เคมี II: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2545.

[6] นาตยา งามโรจนวณิชย์และคณะ. คู่มือปฏิบัติการเคมีอินทรีย์. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2547.

[7] ดาวัลย์ ฉิมภู่. ชีวเคมี. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2548.

[8] ศศิเกษม ทองยงค์และพรรณี เดชคำแหง. เคมีอาหารเบื้องต้น: กรุงเทพฯ:โอเดียนสโตว์, 2530.

[9] วรนันท์ ศุภกาญจน์. โภชนาศาสตร์เชิงทดลอง . คณะแพทย์ศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี และสถาบันวิจัยโภชนาการ, มหาวิทยาลัยมหิดล, 2539.

[10] Ceirwyn, S, James. Analytical chemistry of foods, Chapman and Hall, London, 1995.

[11] Hudson, B.J, Applied Science, Development in Food Protein – 1, Academic Press Inc., London, 1982.

[12] Leo, M.L. Nollet, Hand book of Food Analysis, vol-1, Maree/Decker, Inc, USA, 1996, pp.1079-1085.

[13] Official Method of Analysis of the Association of the Official AnalyticalChemis, Vol 1-2, 1990.

[14] Layne, E. Spectrophotometric and Turbidimetric Methods for Measuring Proteins. Methods in Enzymology 10: 447-455.1957.

[15] Mattila, P.,P. Salo Väänänene, Könkö, H.AroandT. Jalava. J.Agric.Food.Chem. 2002, 50(22:4619- 4622)

[16] วราภร วราอัศวบัติและคณะ. แมลงที่เป็นอาหารในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ, เอกสารการวิจัย ฉบับที่ 7: มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม ; โรงพิมพ์รุ่งเกียรติ, 2518.

นิยมบริโภค: คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒมหาสารคาม, 2528.

[18] Del Valle, F.R. and Mena, M.H. An Investigation into Insect Protein. J of Food Processing and preservation. 1982. 6:99-110.

[19] Dorror, D.J. and White, R.E, A Field Guide to the Insects of American North of Mexico, Third Ed. Houghton-Miffin Co., Boston, Mass.1970.

[20] สุ เทพ อุสาหะและคณะ. การศึกษาคุณภาพของโปรตีน ปริมาณวิตามินและแร่ธาตุจากจิ้งหรีดหางสั้นและแมลงกระชอน: มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 2536.

[21] ประเสริฐ ศรีไพไรจน์. เทคนิคทางเคมี. กรุงเทพฯ: พิมพ์ครั้งที่ 3, สำนักพิมพ์ประกายพรึกษ์, 2538.

[22] AOAC Officcial Method of Analysis. Chapter 4, p. 30A, 2002.

[23] แม้น อมรสิทธิ์และอมร เพชรสม. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ. กรุงเทพฯ: พิมพ์ครั้งที่ 3, 2534.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน NaOH และ HCl

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน NaOH และ HCl

1. การเตรียมสารละลาย 0.1 โมลาร์ NaOH 500 มิลลิลิตร

   1.1 ชั่ง NaOH จำนวน 2 กรัม ใส่ลงใน ขวดวัดปริมาตร ขนาด 500 มิลลิลิตร

   1.2 เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

   1.3 นำสารละลายที่เตรียมได้ เพื่อหาความเข้มข้นที่แน่นอน

2. การหาความเข้มข้นที่แน่นนอนของ NaOH ด้วย KHP โดยการนำไปไทเทรต

ตารางที่ ก.1 น้ำหนักของ Primary standard KHPและปริมาตรNaOHที่ใช้ในการไทเทรตเพื่อหาความเข้มข้นที่แน่นอนของ NaOH

Flask No.	น้ำหนัก KHP (กรัม)	ปริมาตร NaOH (มิลลิลิตร)	ปริมาตร KHP (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้น NaOH (โมลาร์)
1	1.0200	10.20	10.00	0.0980
2	1.0210	10.50	10.00	0.0952
3	1.0220	10.30	10.00	0.0970
4	1.0230	10.60	10.00	0.0943
$\overline{X}$		10.40	10.00	0.0961

3. หาความเข้มข้นของกรด HCl โดยการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานNaOH

ตารางที่ ก.2 ปริมาตรของ Secondary standard NaOHและปริมาตร HCl ที่ใช้ในการไทเทรตเพื่อหาความเข้มข้นที่แน่นอนของ HCl

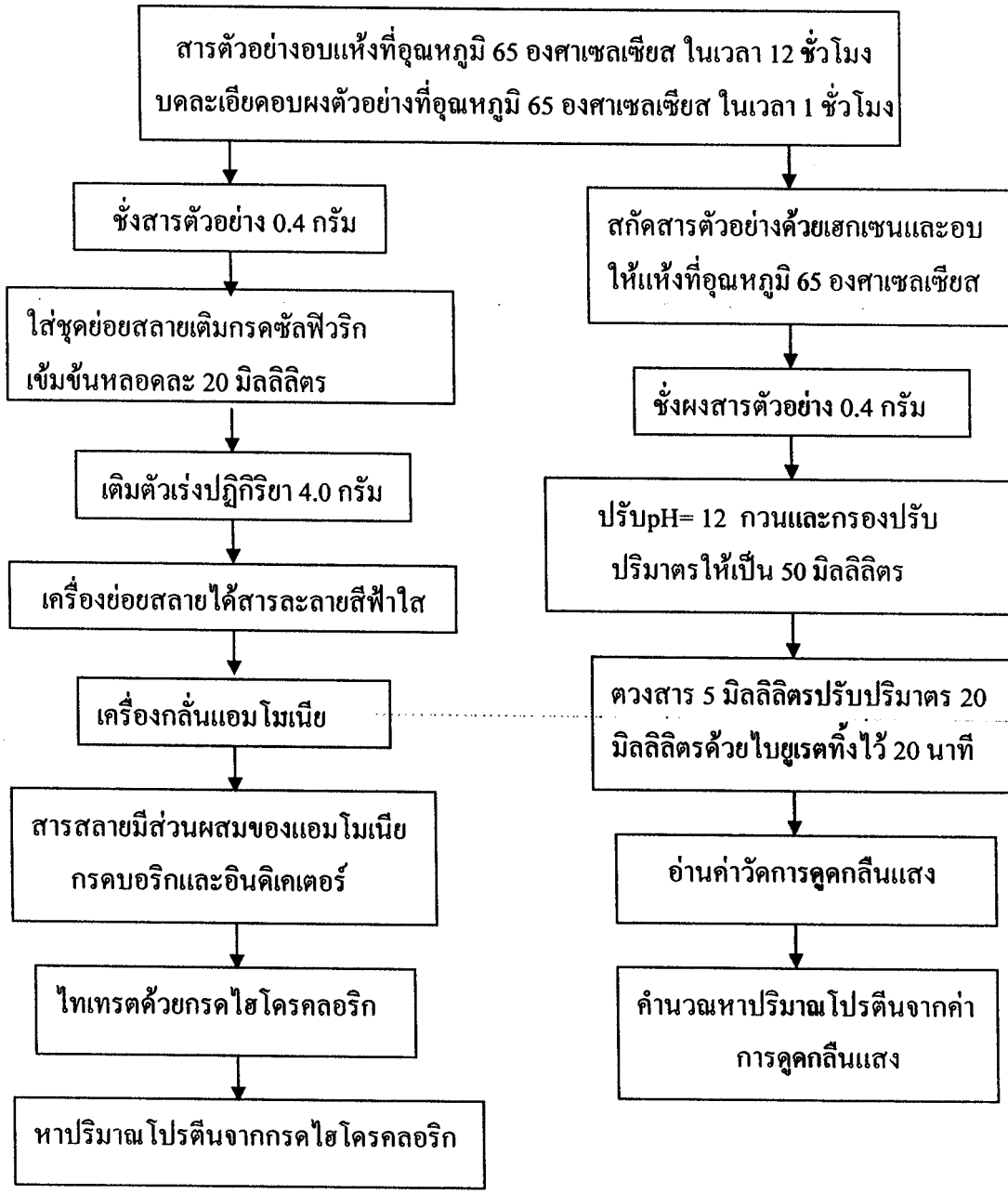
Flask No.	ปริมาตร HCl (มิลลิลิตร)	ปริมาตรNaOH (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้น HCl (โมลาร์)
1	10.00	10.20	0.0980
2	10.00	10.50	0.1009
3	10.00	10.50	0.1009
4	10.00	10.60	0.1018
$\overline{X}$	10.00	10.45	0.1004

4. การเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาใช้ K_2SO_4 ผสมกับ $CuSO_4$ และ Cu ในอัตราส่วน 100:10:1 กรัม

ภาคผนวก ข
ขั้นตอนการดำเนินการ

ภาคผนวก ข
ขั้นตอนการดำเนินการ

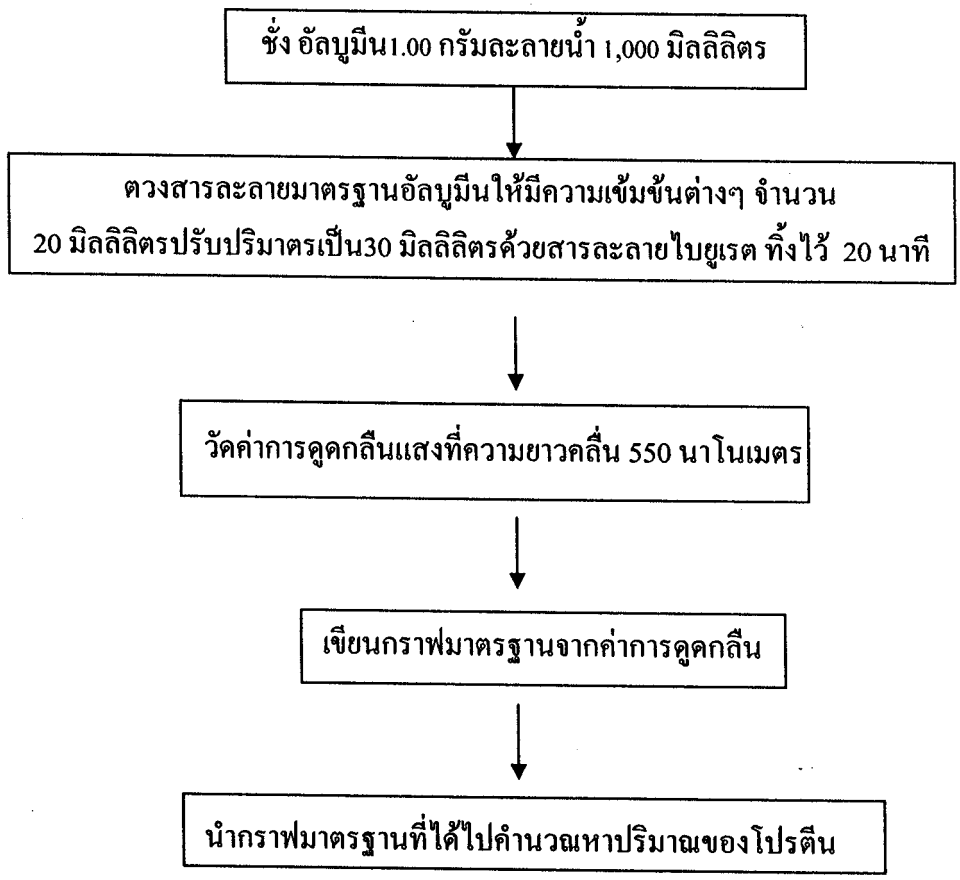
แสดงขั้นตอนการย่อยสลายโปรตีนและวัดค่าการดูดกลืนของแสงสารตัวอย่าง



แผนภูมิ แสดงขั้นตอนการย่อยสลายโปรตีนและการวัดค่าดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

การเตรียมสารละลายมาตรฐานในวิธี ไบยูเรต

แสดงขั้นตอนการเตรียมสารละลายมาตรฐาน



แผนภูมิ แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ภาคผนวก ค
ค่าคอนเวอร์ชั่นแฟคเตอร์สำหรับเปลี่ยนเปอร์เซนต์ของโปรตีน

ภาคผนวก ค

ตารางที่ 3 ค่าคอนเวอร์ชั่น แฟคเตอร์ สำหรับเปลี่ยนเปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจน (Conversion factors for converting percentage of nitrogen) [11] ในสารตัวอย่างที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ

Food	%N in protein (X)	Conversion factor F (100/X)
Mixture	16.00	6.25
Meat	16.00	6.25
Maize	16.00	6.25
Milk and dairy products	15.66	6.38
Flour	17.54	5.70
Egg	14.97	6.68
Gelatin	18.02	5.57
Soya	17.51	5.71
Rice	16.81	5.95

ภาคผนวก ง
ข้อมูลผลการทดลอง

ภาคผนวก ง

ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีเจล์ดาห์ลโดยใช้ผงแมงป่องช้าง 2 ชนิดคือ ชนิดไม่สกัดไขมันและสกัดไขมัน และแสดงผลการคำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณโปรตีนในแมงป่องช้างที่วิเคราะห์จากย่อยสลายในปริมาณของน้ำหนักสารตัวอย่าง, ตัวเร่งปฏิกิริยาตัวย่อยสลายในอัตราส่วนและเวลาต่างๆกัน

ปริมาณโปรตีนที่ได้จากสารตัวอย่างที่สกัดไขมัน

ตารางที่ ง.1 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้ปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยา 2 กรัม น้ำหนักสารตัวอย่าง 0.2 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง (กรัม)	ตัวเร่งปฏิกิริยา (กรัม)	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	กรดไฮโดรคลอริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
0.2	2.0	15	13.31	58.5
0.2	2.0	15	13.10	57.4
0.2	2.0	15	12.82	56.0
$\overline{X}$				57.3
SD				1.0

จากตารางที่ ง.1 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายหาได้จากตัวอย่างการคำนวณดังต่อไปนี้

ในวิธีการทดลองของ เจล์ดาห์ลในเนื้อ ใช้แฟคเตอร์ในการคำนวณเป็น 6.25ในธัญญพืชใช้แฟคเตอร์ 5.7 ผลิตภัณฑ์จากนม6.38 ดังนั้นในการคำนวณหาร้อยละของโปรตีนในแมงป่องช้างอบแห้งจึงใช้แฟคเตอร์ 6.25

$$\text{ร้อยละของโปรตีน} = \frac{\text{ปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรต (มิลลิลิตร)} \times \text{โมลาร์} \times 1.4 \times 6.25}{\text{น้ำหนักของสารตัวอย่าง (กรัม)}}$$

M = โมลาริตีของกรดไฮโดรคลอริก

ตัวอย่าง น้ำหนักของแมงป่องช้าง 0.2 กรัม (ตารางที่ ง.1)

ใช้ปริมาณกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1004 โมลาร์ใช้ไป 13.31 มิลลิลิตร

ดังนั้น ร้อยละโปรตีน $= \frac{13.31 \text{ มิลลิลิตร} \times 0.1004 \text{ โมลาร์} \times 1.4 \times 6.25}{0.2 \text{ กรัม}}$

$= 58.5$

$= 0.11$ กรัมต่อน้ำหนักแมงป่องช้างแห้ง

ตารางที่ ง.2 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้ปริมาณ ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัมน้ำหนักของสารตัวอย่าง 0.2 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	ตัวเร่งปฏิกิริยา (กรัม)	ร้อยละของโปรตีน
1	4.0	61.4
2	4.0	60.9
3	4.0	61.3
$\overline{X}$		61.2
SD		0.2

ตารางที่ ง.3 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้ปริมาณ ตัวเร่งปฏิกิริยา 6.0 กรัมน้ำหนักของสารตัวอย่าง 0.2 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	ตัวเร่งปฏิกิริยา (กรัม)	ร้อยละของโปรตีน
1	6.0	57.9
2	6.0	59.3
3	6.0	59.7
$\overline{X}$		58.9
SD		0.7

ตารางที่ ง.4 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้ปริมาณ ตัวเร่งปฏิกิริยา 8.0 กรัมน้ำหนักของสารตัวอย่าง 0.2 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	ตัวเร่งปฏิกิริยา (กรัม)	ร้อยละของโปรตีน
1	8.0	58.9
2	8.0	57.9
3	8.0	59.2
$\overline{X}$		58.7
SD		0.5

ตารางที่ ง.5 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.2 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	น้ำหนักสารตัวอย่าง (กรัม)	ร้อยละของโปรตีน
1	0.2	61.4
2	0.2	62.3
3	0.2	61.5
$\overline{X}$		61.7
SD		0.4

ตารางที่ ง.6 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	น้ำหนักสารตัวอย่าง (กรัม)	ร้อยละของโปรตีน
1	0.4	66.2
2	0.4	65.1
3	0.4	64.9
$\overline{X}$		65.4
SD		0.6

ตารางที่ ง.7 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	น้ำหนักสารตัวอย่าง (กรัม)	ร้อยละของโปรตีน
1	0.6	59.9
2	0.6	60.3
3	0.6	60.6
$\overline{X}$		60.8
SD		0.5

ตารางที่ ง.8 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	น้ำหนักสารตัวอย่าง (กรัม)	ร้อยละของโปรตีน
1	0.8	59.5
2	0.8	60.9
3	0.8	59.3
$\overline{X}$		59.6
SD		0.5

ตารางที่ ง.9 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	15.0	59.2
2	15.0	58.9
3	15.0	60.1
$\overline{X}$		59.4
SD		0.5

ตารางที่ ง.10 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	20.0	65.8
2	20.0	65.4
3	20.0	64.9
$\overline{X}$		65.4
SD		0.6

ตารางที่ ง.11 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	25.0	65.2
2	25.0	64.8
3	25.0	65.8
$\overline{X}$		65.3
SD		0.4

ตารางที่ ง.12 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	15.0	59.4
2	15.0	59.3
3	15.0	58.9
$\overline{X}$		59.2
SD		0.2

ตารางที่ ง.13 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	20.0	59.7
2	20.0	60.8
3	20.0	60.3
$\overline{X}$		60.2
SD		0.4

ตารางที่ ง.14 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	25.0	65.9
2	25.0	64.5
3	25.0	65.5
$\overline{X}$		65.3
SD		0.6

ตารางที่ ง.15 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	15.0	58.5
2	15.0	57.6
3	15.0	56.4
$\overline{X}$		57.5
SD		0.8

ตารางที่ ง.16 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายตัวอย่าง 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	20.0	60.1
2	20.0	60.5
3	20.0	59.3
$\overline{X}$		59.9
SD		0.6

ตารางที่ ง.17 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	25.0	61.2
2	25.0	62.3
3	25.0	61.4
$\overline{X}$		61.9
SD		0.4

ตารางที่ ง.18 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน		
		6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	10 ชั่วโมง
1	20.0	66.2	66.3	65.8
2	20.0	65.1	65.2	66.1
3	20.0	64.9	65.4	65.2
$\overline{X}$		65.4	65.6	65.7
SD		0.1	0.5	0.4

ตารางที่ ง.19 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน		
		6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	10 ชั่วโมง
1	20.0	59.9	64.9	65.1
2	20.0	60.7	65.2	64.9
3	20.0	60.6	65.8	65.4
$\overline{X}$		60.4	65.3	65.1
SD		0.4	0.4	0.2

ตารางที่ ง.20 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน		
		6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	10 ชั่วโมง
1	20.0	60.1	61.4	64.9
2	20.0	60.5	62.1	65.2
3	20.0	59.3	62.4	65.8
$\overline{X}$		59.6	61.9	65.3
SD		0.6	0.4	0.2

ตารางที่ ง.21 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน		
		6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	1ชั่วโมง
1	25.0	65.2	65.2	65.3
2	25.0	64.8	66.1	65.6
3	25.0	65.8	64.9	65.0
$\overline{X}$		65.3	65.4	65.3
SD		0.4	0.5	0.2

ตารางที่ ง.22 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน		
		6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	10 ชั่วโมง
1	25.0	65.9	65.4	66.1
2	25.0	64.5	65.0	65.2
3	25.0	65.5	65.7	65.1
$\overline{X}$		65.3	65.4	65.5
SD		0.6	0.3	0.4

ตารางที่ ง.23 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน		
		6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	10 ชั่วโมง
1	25.0	61.2	64.6	65.2
2	25.0	62.3	65.4	66.0
3	25.0	62.4	65.5	65.1
$\overline{X}$		61.9	65.2	65.5
SD		0.5	0.4	0.4

ปริมาณโปรตีนที่ได้จากสารตัวอย่างที่ไม่สกัดไขมัน

ตารางที่ ง.24 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้ ตัวเร่งปฏิกิริยา 2.0 กรัม สารตัวอย่าง 0.2 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	ตัวเร่งปฏิกิริยา (กรัม)	ร้อยละของโปรตีน
1	2.0	57.9
2	2.0	58.2
3	2.0	57.2
$\overline{X}$		57.8
SD		0.4

ตารางที่ ง.25 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้ ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม สารตัวอย่าง 0.2 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	ตัวเร่งปฏิกิริยา (กรัม)	ร้อยละของโปรตีน
1	4.0	62.3
2	4.0	61.8
3	4.0	61.4
$\overline{X}$		61.8
SD		0.4

ตารางที่ ง.26 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา 6.0 กรัม สารตัวอย่าง 0.2 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	ตัวเร่งปฏิกิริยา (กรัม)	ร้อยละของโปรตีน
1	6.0	58.1
2	6.0	57.4
3	6.0	57.9
$\overline{X}$		57.8
SD		0.3

ตารางที่ ง.27 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายโดยใช้ ตัวเร่งปฏิกิริยา 8.0 กรัม สารตัวอย่าง 0.2 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	ตัวเร่งปฏิกิริยา (กรัม)	ร้อยละของโปรตีน
1	8.0	57.9
2	8.0	58.2
3	8.0	57.9
$\overline{X}$		58.0
SD		0.1

ตารางที่ ง.28 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.2 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	20	60.8
2	20	61.2
3	20	61.4
$\overline{X}$		61.1
SD		0.2

ตารางที่ ง.29 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร	ร้อยละของโปรตีน
1	20	65.2
2	20	65.9
3	20	66.0
$\overline{X}$		65.7
SD		0.4

ตารางที่ ง.30 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	20	59.2
2	20	60.1
3	20	59.5
$\overline{X}$		59.6
SD		0.4

ตารางที่ ง.31 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	20	58.9
2	20	59.8
3	20	60.2
$\overline{X}$		59.6
SD		0.5

ตารางที่ ง.32 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	15	58.9
2	15	59.5
3	15	59.2
$\overline{X}$		59.2
SD		0.3

ตารางที่ ง.33 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	20	65.2
2	20	65.9
3	20	66.0
$\overline{X}$		65.7
SD		0.4

ตารางที่ ง.34 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	25	65.4
2	25	64.8
3	25	65.7
$\overline{X}$		65.3
SD		0.4

ตารางที่ ง.35 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	15	58.4
2	15	59.1
3	15	58.8
$\overline{X}$		58.8
SD		0.3

ตารางที่ ง.36 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	20	59.2
2	20	60.1
3	20	59.6
$\overline{X}$		60.8
SD		0.5

ตารางที่ ง.37 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	25	65.4
2	25	65.8
3	25	64.9
$\overline{X}$		65.4
SD		0.4

ตารางที่ ง.38 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	15	57.9
2	15	58.3
3	15	58.8
$\overline{X}$		58.3
SD		0.4

ตารางที่ ง.39 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	20	58.9
2	20	59.8
3	20	60.2
$\overline{X}$		59.6
SD		0.5

ตารางที่ ง.40 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่างจำนวน 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม และ กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน
1	25	63.3
2	25	62.8
3	25	62.7
$\overline{X}$		62.9
SD		0.3

ตารางที่ ง.41 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน		
		6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	10 ชั่วโมง
1	20	66.3	65.8	65.3
2	20	65.8	65.5	64.9
3	20	65.3	65.7	65.6
$\overline{X}$		65.7	65.7	65.3
SD		0.4	0.1	0.3

ตารางที่ ง.42 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน		
		6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	10 ชั่วโมง
1	20	60.2	65.4	65.7
2	20	61.0	64.9	65.6
3	20	60.4	65.7	65.8
$\overline{X}$		60.5	65.3	65.7
SD		0.3	0.3	0.4

ตารางที่ ง.43 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน		
		6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	10 ชั่วโมง
1	20	58.6	62.7	65.7
2	20	59.4	63.3	65.6
3	20	60.1	62.6	65.8
$\overline{X}$		59.4	62.9	65.7
SD		0.6	0.3	0.1

ตารางที่ ง.44 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.4 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน		
		6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	10 ชั่วโมง
1	25	65.8	65.4	65.7
2	25	66.1	65.7	65.6
3	25	65.4	65.3	65.8
$\overline{X}$		65.8	65.5	65.7
SD		0.3	0.2	0.1

ตารางที่ ง.45 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.6 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน		
		6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	10 ชั่วโมง
1	25	65.4	66.2	65.8
2	25	65.3	65.8	65.7
3	25	65.4	65.3	65.3
$\overline{X}$		65.4	65.8	65.6
SD		0.4	0.4	0.2

ตารางที่ ง.46 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายสารตัวอย่าง 0.8 กรัม ตัวเร่งปฏิกิริยา 4.0 กรัม กรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตรในเวลา 6,8,10 ชั่วโมง

สารตัวอย่าง	กรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)	ร้อยละของโปรตีน		
		6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	10 ชั่วโมง
1	25	63.3	65.4	66.3
2	25	62.4	65.8	65.8
3	25	62.8	65.,4	65.4
$\overline{X}$		62.9	65.5	65.8
SD		0.3	0.2	0.4

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธี ไบยูเรต

ใช้ผงแมงป่องช้างที่บดละเอียดที่สกัดไขมันและไม่สกัดไขมันเพื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ได้ โดยวัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณโปรตีนโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

ตารางที่ ง.47 การดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่สกัดไขมันจำนวน 0.4 กรัมวัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

ตัวอย่าง	การดูดกลืนแสง	ร้อยละของโปรตีน
1	0.443	36.1
2	0.441	35.9
3	0.441	35.9
$\overline{X}$	0.442	36.0
SD	0.001	0.09

ตารางที่ ง.48 แสดงการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่สกัดไขมันจำนวน 0.6 กรัมวัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

ตัวอย่าง	การดูดกลืนแสง	ร้อยละของโปรตีน
1	0.651	35.6
2	0.651	35.6
3	0.652	35.7
$\overline{X}$	0.651	35.6
SD	0.004	0.04

ตารางที่ ง.49 การดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่สกัดไขมันจำนวน 0.8 กรัมวัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

ตัวอย่าง	การดูดกลืนแสง	ร้อยละของโปรตีน
1	0.873	36.0
2	0.871	35.9
3	0.871	35.9
$\overline{X}$	0.872	36.0
SD	0.001	0.04

ตารางที่ ง.50 การดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ไม่สกัดไขมันจำนวน 0.4 กรัมวัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

ตัวอย่าง	การดูดกลืนแสง	ร้อยละของโปรตีน
1	0.553	45.3
2	0.501	41.0
3	0.533	43.5
$\overline{X}$	0.529	43.3
SD	0.02	1.76

ตารางที่ ง.51 การดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ไม่สกัดไขมันจำนวน 0.6 กรัม วัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

ตัวอย่าง	การดูดกลืนแสง	ร้อยละของโปรตีน
1	0.835	45.8
2	0.780	42.8
3	0.800	43.8
$\overline{X}$	0.805	44.1
SD	0.02	1.24

ตารางที่ ง.52 การดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ไม่สกัดไขมันจำนวน 0.8 กรัม วัดที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

ตัวอย่าง	การดูดกลืนแสง	ร้อยละของโปรตีน
1	1.000	41.3
2	0.989	40.8
3	1.092	45.1
$\overline{X}$	1.027	42.4
SD	0.04	1.92

ภาคผนวก จ
การคำนวณหาร้อยละของโปรตีน

ภาคผนวก จ

การคำนวณหาร้อยละของโปรตีน

คำนวณจากกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานอัลบูมิน

ตัวอย่างเช่น

กราฟมาตรฐานภาพที่ 4.2 และข้อมูลจากตารางที่ 4.10

จากกราฟมาตรฐาน $y = 0.0006x + 0.0099$

เมื่อชั่งแมงป่องช้างอบแห้ง 0.4 กรัม ละลายน้ำ 50 มิลลิลิตรปิเปตสารละลายตัวอย่าง 5 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้เป็น 20 มิลลิลิตรด้วยไบยูเรต นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงได้เท่ากับ 0.442 มีความเข้มข้น 720.17 พีพีเอ็ม สามารถคำนวณหาร้อยละของโปรตีน ได้ดังนี้

จากสมการเส้นตรง แทนค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

$0.442 = 0.0006\ X + 0.0099$

$X = 720.1667$ พีพีเอ็ม

สารละลาย 1,000 มิลลิลิตรมีโปรตีน 720.1667 มิลลิกรัม

แสดงว่า ในสารละลายตัวอย่าง 5 มิลลิลิตรมีปริมาณโปรตีน 720.1667 มิลลิกรัมต่อลิตร

สารละลายตัวอย่าง 20 มิลลิลิตรจะมีโปรตีน $\frac{720.1667 \times 20}{5}$

= 2,880.68 มิลลิกรัมต่อลิตร

สารละลาย 1,000 มิลลิลิตรมีโปรตีน 2,880.68 มิลลิกรัม

สารละลาย 50 มิลลิลิตรมีโปรตีน 144.03 มิลลิกรัม

= 144.03 มิลลิกรัม

สารตัวอย่าง 0.4 กรัม มีโปรตีน 0.144 กรัม

สารตัวอย่าง 100 กรัม มีโปรตีน 36.0 กรัม

ดังนั้น ร้อยละของโปรตีน = 36.0

= 36.0 กรัมต่อกรัมของแมงป่องช้างอบแห้ง

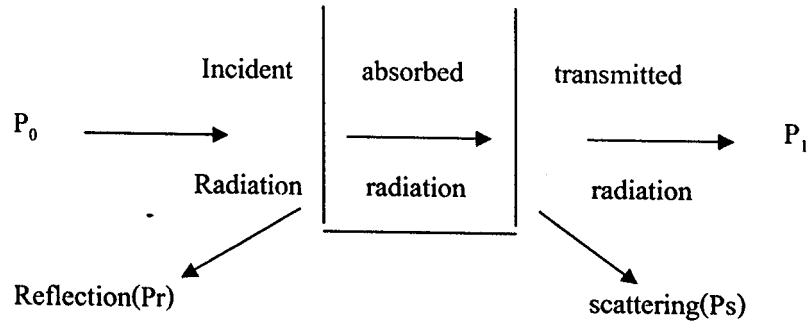
ภาคผนวก ฉ
หลักการอัลตราไวโอเลต,วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีและเจล์ดาห์ล

ภาคผนวก ฉ
หลักการอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

หลักการ

การดูดกลืนแสงหรือรังสีที่อยู่ในช่วงยูวี- วิสิบิล ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวกลื่นประมาณ 190-800 นาโนเมตร ของสารเคมีนั้น ส่วนใหญ่ได้แก่ พวกสารอินทรีย์ หรือ สารประกอบเชิงซ้อน หรือ สาร
อนินทรีย์ ทั้งที่มีสีและไม่มีสี สมบัติของสารดังกล่าวนี้ได้นำมาใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณอย่างกว้างขวางเพราะวิธีนี้ให้ความถูกต้องและแม่นยำ มีสภาพไวสูงโดยอาจทำการวิเคราะห์อยู่ในรูปของธาตุหรือโมเลกุลก็ได้ แต่ในกรณีที่จะนำไปใช้พิสูจน์ว่าตัวอย่างเป็นสารอะไร มีโครงสร้างอย่างไรอาจจะต้องใช้เทคนิคอย่างอื่นเข้าช่วยเพื่อให้เกิดแน่ใจ เช่น IRหรือ นาโนเมตรR spectroscopy

เทคนิคการวิเคราะห์นี้บางครั้งก็เรียกว่า ยูวี –วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี แต่ถ้าสารที่ทำการวิเคราะห์มีสีหรือทำให้เกิดสีขึ้นสารที่มีสีจะดูดกลืนแสงในช่วงวิสิเบิล อาจเรียกว่า คัลเลอริเมตรี (colorimetry)

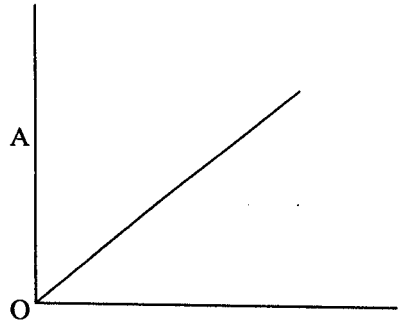


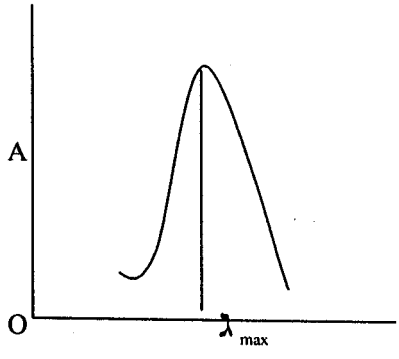
ภาพแสดง การเกิดอันตรกิริยาของสารเคมีกับการแผ่รังสีของแสง

เมื่อให้ลำแสงที่เคลื่อนที่อย่างต่อเนื่อง (continuous beam of radiation) ผ่านเข้าไปในวัตถุใสจะพบว่าแสงบางส่วนถูกดูดกลืน บางส่วนก็เกิดการสะท้อน บางส่วนก็กระเจิง และบางส่วนก็ผ่านทะลุออกไป ดังรูป ถ้าให้แสงที่ทะลุออกไปนั้นผ่านเข้าเครื่องกระจายแสง เช่น ปริซึม หรือเกรตติง จะเห็นว่าสเปกตรัมหายไปส่วนหนึ่ง ส่วนที่หายไปเรียกว่า absorption spectrum พลังงานที่ถูกดูดกลืนไปนั้นจะทำให้โมเลกุลหรืออะตอมเปลี่ยนระดับพลังงานจากสถานะพื้น (ground state) ไปยังสถานกระตุ้น (excited stated)

การวิเคราะห์หาปริมาณของสารด้วยการใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

ในกรณีที่สารตัวอย่างมีสารที่จะวิเคราะห์เพียงสารเดียวอาจใช้วิธีทำกราฟมาตรฐานโดยเตรียมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่างๆกัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง λ_{max} โดยเทียบกับ blank นำผลที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้น จะได้กราฟเส้นตรง เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างได้ ก็จะหาปริมาณของสารที่จะวิเคราะห์ได้โดยอ่านจากกราฟมาตรฐานและลักษณะของสเปกตรัม ดังภาพ

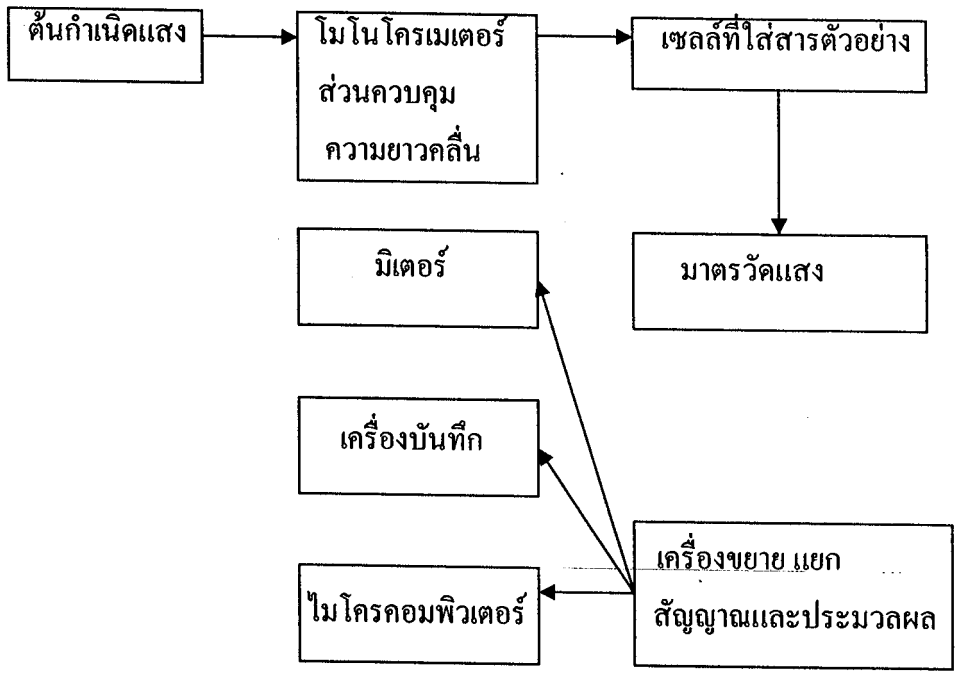




ภาพแสดง กราฟมาตรฐานทั่วไปที่ใช้หาปริมาณสาร ภาพแสดงสเปกตรัมของสารตัวอย่าง

ค่าการดูดกลืนแสงควรอยู่ในช่วงที่พอเหมาะเพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้อง ควรอยู่ในช่วง 0.1-1.0 ถ้าสารละลายจางเกินไปวัดค่าการดูดกลืนแสงจะได้น้อย ก็อาจแก้ได้โดยใช้เซลล์ให้กว้างขึ้น ถ้าเข้มข้นมากเกินไปก็ใช้วิธีทำให้เจือจาง ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ก็ใช้เครื่องคำนวณได้โดยใส่ข้อมูลเข้าไป

ส่วนประกอบของเครื่องยูวี – วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์



แผนภูมิ แสดงส่วนประกอบของสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

1. ต้นกำเนิดแสง (Light Source) เป็นหลอดไฮโดรเจน (hydrogen lamp) หรือ หลอดดิวทีเรียม (deuterium lamp) มีลักษณะดังนี้

1.1 ให้ลำแสงที่มีกำลังพอที่จะวัดด้วยมาตรแสง

1.2 ให้การแผ่รังสีออกมาตลอดเวลาในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการ

1.3 ให้การแผ่รังสีคงที่ตลอดเวลาเพื่อให้ผลการวิเคราะห์แม่นยำและเที่ยงตรง

2. โมโนโครมิเตอร์ (Monochrometor) เป็นหัวใจของสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เพราะเป็นส่วนที่ใช้ควบคุมแสงโดยทำให้แสงที่ออกมาจากต้นกำเนิดแสง เป็นแสงที่ประกอบด้วยแสงที่มีความยาวคลื่นต่างๆ และเป็นแถบแสงแคบๆ ประกอบด้วย

2.1 ฟิลล์เตอร์ (filters)

2.2 ปริซึม (prism)

2.3 เกรตติง (grating) ที่ใช้กันคือ เกรตติงที่ยอมให้แสงผ่านได้และเกรตติงสะท้อนแสง

3. ส่วนที่วางสารตัวอย่างเพื่อวัด (cell compartment)

4. เครื่องวัดแสง (Radiation Detector) ประกอบด้วย โฟโตโวลตาอิกเซลล์ใช้ตรวจวัดแสงในช่วงวิสิเบิลมีสภาพไวสูงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร จะลดลงที่ความยาวคลื่น350 และ 750 นาโนเมตร

5. หลอดโฟโตมัลติฟลายเออร์ มีสภาพไวสูงในช่วงความยาวคลื่น 190-900 นาโนเมตร

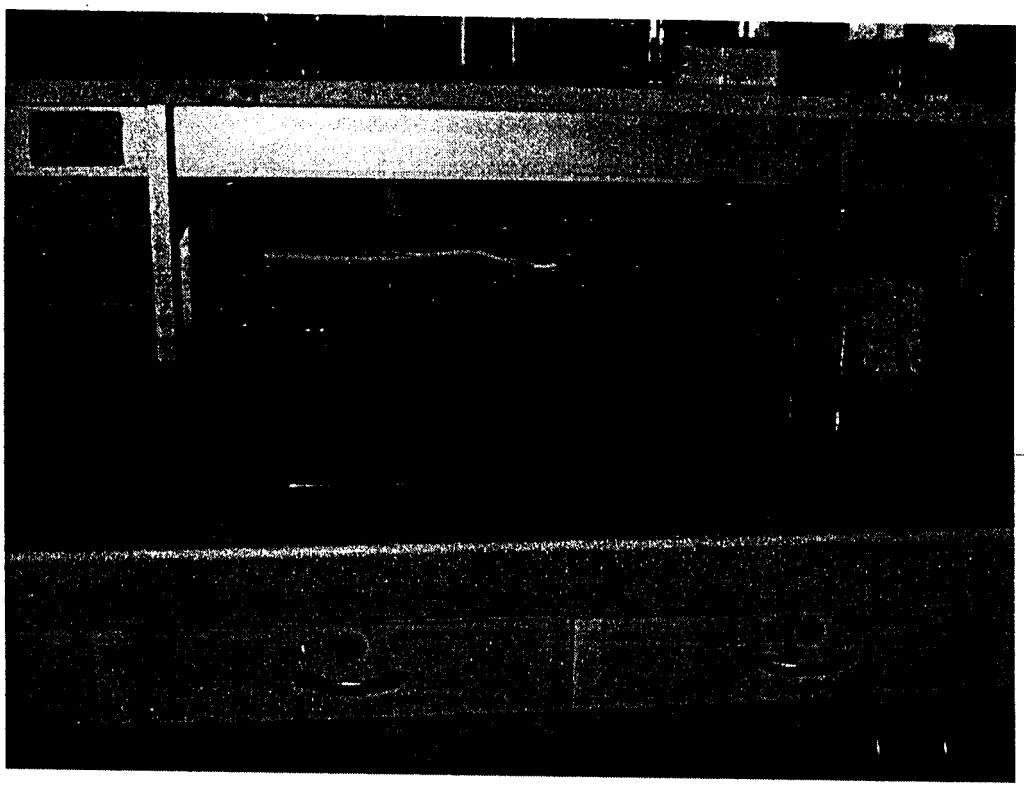
6. เครื่องขยาย – แยกสัญญาณและประมวลผลประกอบด้วย

6.1 มิเตอร์ มีสเกล บอกค่าแอบซอร์แบน และ เปอร์เซ็นต์ transmitance

6.2 ดิจิตอลมิเตอร์ แสดงค่าเป็นตัวเลขเป็นค่าแอบซอร์แบนและ เปอร์เซ็นต์ transmittance

6.3 เครื่องบันทึก เรคอเดอร์ หรือพรินเตอร์ ทำหน้าที่เขียนสเปกตรัมและกราฟได้

6.4 เครื่องไมโครคอมพิวเตอร์หรือไมโครโปรเซสเซอร์ ควบคุมการทำงานและประมวลผลข้อมูลและเก็บข้อมูลทั้งหมด



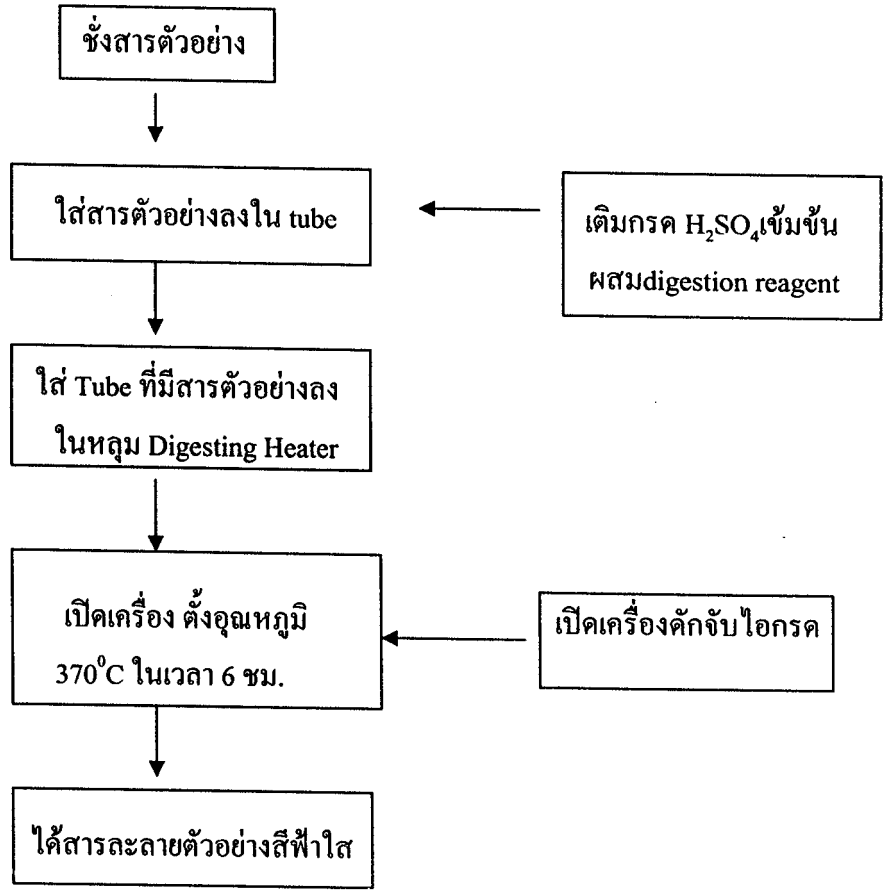
หลักการทำงานของเครื่องเจล์ดาห์ล

หลักการ

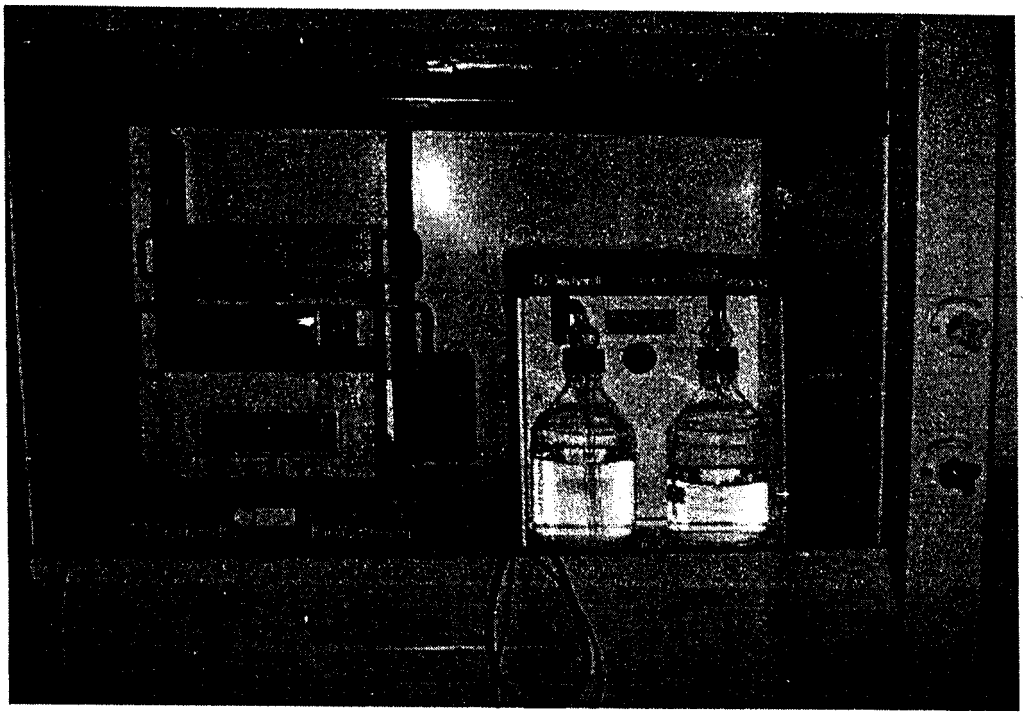
การย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นโดยจะ Oxidation ธาตุ carbon และ hydrogen ในสารตัวอย่างให้เป็น CO_2 และ H_2O การย่อยสลายจะขึ้นอยู่กับสถานะและลักษณะการรวมตัวของไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของ amine, amide, imide, nitro derivative ซึ่งหาปริมาณโดยเปลี่ยนเป็น ammonia ion

ในการย่อยสลายด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นจะไม่สมบูรณ์จึงได้มีการเติม neutral salt พวก K_2SO_4 หรือ Na_2SO_4 เพื่อเพิ่มจุดเดือดให้กับกรดซัลฟิวริก และได้เติมธาตุหรือสารประกอบของ Hg ,Cu และ Se เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเกิดปฏิกิริยาจะได้ NH_4HSO_4 ซึ่งเป็นสารละลายสีฟ้าใส

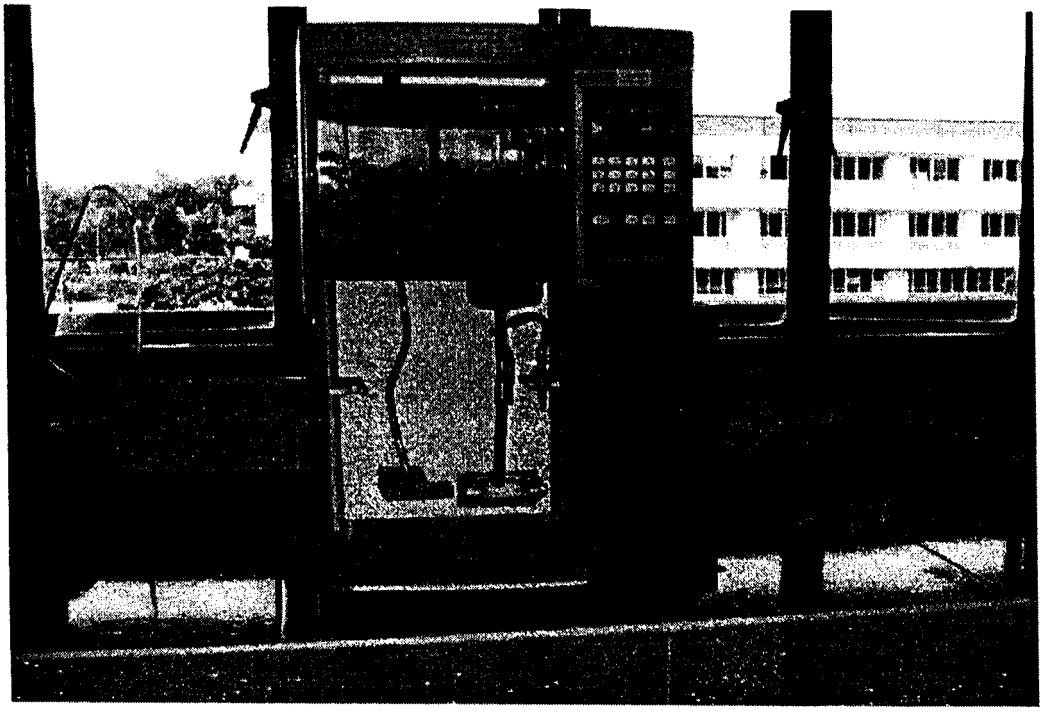
ขั้นตอนการใช้งาน



แผนภูมิ แสดงขั้นตอนการทำงานวิธีเจล์ดาห์ล



ภาพที่ ฉ.2 เครื่องเจล์ดาห์ล



ภาพที่ ฉ.3 เครื่อง Nitrogen Distillation

หลักการทำงานของเครื่อง Nitrogen Distillation

สารละลายใสที่ได้จาก Kjeldahl Tube ทำให้เจือจางและทำให้เป็นด่าง เพื่อให้ ammonia หลุดออกมาจากการกลั่นและให้ ammonia คงตัวอยู่ได้โดยการเติมกรด Boric 4% แล้วเกิดเป็น Dihydrogen borate ซึ่งมีสมบัติเป็นด่างสามารถนำไปไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานกรด ที่จุดสมมูลสารละลายจะประกอบด้วย Boric acid และ ammonium ion ซึ่งทดสอบด้วยสารละลาย Mixed indicator

ขั้นตอนการทำงาน

แผนภูมิ แสดงขั้นตอนของ Nitrogen Distillation

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	นายประสิทธิ์ มานะพิมพ์
	Mr. Prasith Manapim
ประวัติการศึกษา	วิทยาลัยครูอุบลราชธานี, พ.ศ.2516-2519
	ประกาศนียบัตรวิชาการศึกษาชั้นสูง (เคมี)
	วิทยาลัยครูอุบลราชธานี, พ.ศ.2520-2521
	ครุศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทั่วไป)
ประวัติการทำงาน	2522-ปัจจุบัน
	โรงเรียนอำนาจเจริญ อำเภอเมือง จังหวัดอำนาจเจริญ
ตำแหน่งและสถานที่ทำงานปัจจุบัน	ครูชำนาญการ
	โรงเรียนอำนาจเจริญ อำเภอเมือง จังหวัดอำนาจเจริญ
	โทรศัพท์ (08-4551-1959 - 60)