

บทที่ 4

4.1 การวิเคราะห์ปฏิกิริยาเอนไซม์ และน้ำตาลจากกระบวนการหมัก วัตถุประสงค์ เพื่อให้ให้นักศึกษาสามารถวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส เนื้อหา

เอนไซม์ (enzyme) คือ สารชีวโมเลกุล (ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบจำพวก โปรตีน) ที่ช่วยเร่งอัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีซึ่งเกิดขึ้นภายในเซลล์ เอนไซม์มีความสำคัญต่อกระบวนการต่างๆ ในร่างกายของเรา เช่น ทำหน้าที่ในระบบย่อยอาหาร และกระบวนการสร้างและสลาย หรือเมตาบอลิซึม (metabolism) เป็นต้น

เอนไซม์เปรียบเสมือนกุญแจสำคัญที่ส่งเสริมการมีชีวิตของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ตั้งแต่ไซนาโนแบคทีเรียจนถึงสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม อีกความหมายหนึ่งคือ ถ้าหากสิ่งมีชีวิตขาดเอนไซม์ ร่างกายของจะอ่อนแอลงเรื่อยๆ และตายในที่สุด ดังนั้น เอนไซม์จึงเปรียบเหมือนผู้ช่วยในระบบต่างๆ ของร่างกายทำหน้าที่ช่วยเร่งปฏิกิริยาเคมีที่จำเพาะ (specific catalyst) ซึ่งจะทำงานร่วมกับสารชีวเคมีอื่น ได้แก่ โคเอนไซม์ (co-enzymes) ซึ่งร่างกายได้รับจากสารอาหารจำพวกพวก วิตามิน และแร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกาย แต่ถ้ามีเฉพาะวิตามิน และแร่ธาตุนั้น จะไม่สามารถกระตุ้นการทำงานภายในเซลล์ได้ หากไม่ได้ทำงานร่วมกับเอนไซม์

หลักการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์

การเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์เริ่มจาก สารตั้งต้น (substrate) เข้าจับกับเอนไซม์ที่ตำแหน่งกัมมันต์ หรือตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยา (active site) กลายเป็นสารประกอบเอนไซม์รวมกันกับสารตั้งต้น (Enzyme-Substrate complex) และเกิดการเปลี่ยนสารตั้งต้นให้กลายเป็นผลผลิต (product)



ภาพที่ 4 กลไกการย่อยสารตั้งต้นของเอนไซม์

ที่มา: NGThai (2019)

คุณสมบัติของเอนไซม์

1. เอนไซม์มีโครงสร้างทางเคมีเป็นสารประกอบจำพวกโปรตีน ซึ่งประกอบไปด้วย โพลีเปปไทด์ (polypeptide) เพียงสายเดียว หรือหลายสายที่ม้วนกันเป็นก้อนกลม เอนไซม์บางชนิดมีสารประกอบอื่นที่ไม่ใช่โปรตีนรวมอยู่ด้วย เอนไซม์เหล่านี้เรียกว่า โฮโลเอนไซม์ (holoenzyme) ถ้าสารประกอบนั้นเป็นไอออนของโลหะเรียกว่า โคแฟกเตอร์ (cofactor) และถ้าเป็นสารประกอบอินทรีย์จะเรียกว่า โคเอนไซม์ (coenzyme)
2. เอนไซม์แต่ละชนิดมีหน้าที่เฉพาะเจาะจง (specific) โดยจะทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น (substrate) ที่เหมาะสมกันเท่านั้น เช่น เอนไซม์ชนิดย่อยไขมันจะไม่สามารถย่อยแป้งได้ และเอนไซม์ย่อยแป้งจะไม่สามารถย่อยโปรตีน เป็นต้น เอนไซม์จะยังคงสภาพเดิมทั้งคุณสมบัติและปริมาณ ภายหลังการเกิดปฏิกิริยาแล้ว กล่าวคือ เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา เอนไซม์จะกลับสู่สถานะตั้งต้นเพื่อรอสารตั้งต้นตัวใหม่

3. เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่สามารถเร่งอัตราการเกิดปฏิกิริยาให้เกิดเร็วขึ้น และเป็นตัวลดพลังงานกระตุ้น
4. เอนไซม์มีความไวต่อปฏิกิริยามาก ปริมาณเอนไซม์เพียงเล็กน้อยก็สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ ถ้าไม่มีเอนไซม์ปฏิกิริยาเคมีในร่างกายทุกชนิดจะเกิดขึ้นช้ามาก จนชีวิตไม่สามารถรอดอยู่ได้ (NGThai, 2019)

เซลลูโลส และเอนไซม์เซลลูเลส

เซลลูโลส (cellulose) เป็นสารประกอบ อินทรีย์ที่พบมากที่สุด ประมาณร้อยละ 45 สารอินทรีย์ทั้งหมดในธรรมชาติ ซึ่งส่วนใหญ่จะสะสม อยู่ในที่ผนังเซลล์ของพืช ในด้านโครงสร้างทางเคมี เซลลูโลส ประกอบด้วยหน่วยย่อยของน้ำตาลกลูโคส จำนวน 1000 - 10,000 โมเลกุล ต่อกันเป็นโพลีเมอร์ (polymer) เชื่อมกันด้วยพันธะเบต้า 1-4 ไกลโคซิดิก (β (1-4) glycosidic linkages) (Prade, 1995)

เอนไซม์เซลลูเลสเป็นกลุ่มเอนไซม์เชิงซ้อนที่ประกอบด้วยเอนไซม์ 3 ชนิด คือ เอนโดกลูคาเนส (endoglucanase) เอกโซกลูคาเนส (exoglucanase) และเซลโลไบเอส (cellbiose) (Juturu and Wu, 2014) โดยเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสจะย่อยเซลลูโลสที่เป็นโครงสร้างผลึกให้เป็นเซลลูโลส สายโซ่ จากนั้นเอนไซม์เอกโซกลูคาเนสจะย่อยเซลลูโลสสายโซ่ให้เป็นเซลลูโลส และเอนไซม์เซลโลไบเอสจะย่อยเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวนี้จะทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และความเป็นกรด-ด่าง ในช่วงพีเอช 4 ถึง 8 (pH 4-8) (Lu and Mosier, 2007)

แป้ง และเอนไซม์อะไมเลส

อะไมเลส (Amylase) เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม Hydrolases และเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) ในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลโดยไฮโดรไลซ์พันธะ 1,4-glycosidase bond ในโมเลกุลของสตาร์ช (starch) ให้มีขนาดของโมเลกุลเล็กลง ทำให้ได้เป็นเดกซ์ทริน (dextrin) และน้ำตาล (sugar) ไคแซ็กคาไรด์ เช่น มอลโทส (maltose) มอนแซ็กคาไรด์ เช่น กลูโคส (glucose) อะไมเลสส่วนใหญ่พบในน้ำลาย ตับอ่อน อะไมเลสที่พบในน้ำลายจะเรียกว่า ไทยาลิน (Ptyalin) ซึ่งสามารถพบได้ในคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Colon Institute, 2012)

อุปกรณ์/เครื่องมือ

1. ข้าวหมักเชื้อรา *Monascus* sp. YRU01
2. สารละลาย soluble starch ร้อยละ 1
3. สารละลายน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 5
4. สารละลาย 0.1 M acetate buffer (pH 5.0)
5. สารละลาย Benedict's
6. บีเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
7. หลอดเซนตริฟิวส์ขนาด 50 มิลลิลิตร
8. หลอดทดลองขนาด 16 x 100 มิลลิเมตร
9. บีกเกอร์ 100 และ 500 มิลลิลิตร
10. ที่วางหลอดทดลอง (rack)
11. eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
12. เครื่องเซนตริฟิวส์
13. เครื่องเขย่า
14. ตาชั่ง 4 ตำแหน่ง

15. Vortex
16. Hot plate
17. จุกยางดูดตัวอย่าง
18. ซ้อนตักสาร
19. ปากกา label

การเตรียม 0.1 M acetate buffer (pH 5.0)

1. สารละลาย A: ปิเปตกรดอะซิติกปริมาตร 5.8 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 300 มิลลิลิตร กวนผสมให้เข้ากัน จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร
2. สารละลาย B: ซั่งโซเดียมอะซิเตท 13.61 กรัม ลงในลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 300 มิลลิลิตร กวนผสมให้เข้ากัน จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร
3. ตวงสารละลาย A ปริมาตร 14.8 มิลลิลิตร และตวงสารละลาย B ปริมาตร 35.2 มิลลิลิตรกวนผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปวัดค่าพีเอชให้ได้เท่ากับ 5 หากค่าพีเอชต่ำกว่า 5 ให้ปรับค่าพีเอช โดยเติมสารละลาย B แต่หากค่าพีเอชมากกว่า 5 ให้ปรับค่าพีเอช โดยเติมสารละลาย A

การทดลองปฏิบัติการ

กิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส

1. เขียนฉลาก ได้แก่ ชื่อกลุ่ม วันเดือนปี บนหลอดเซนตริฟิวส์
2. ซั่งข้าวที่ผ่านการหมักสารสีด้วยเชื้อรา *Monascus* sp. YRU01 ให้ได้ปริมาณ 1 กรัม ลงในหลอดเซนตริฟิวส์ บันทึกน้ำหนัก
3. ปิเปต 0.1 M acetate buffer (pH 5.0) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดเซนตริฟิวส์ข้างต้น
4. นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
5. นำมาปั่นเหวี่ยงที่ 7,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
6. ปิเปตสารละลายส่วนใสปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นปิเปตสารละลาย soluble starch ร้อยละ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาน้ำตาล

การทดสอบหาน้ำตาล

1. เขียนฉลาก ได้แก่ ชื่อกลุ่ม ชื่อตัวอย่าง วันเดือนปี บนหลอดทดลอง
2. ปิเปตสารละลายจากข้อที่ 8 สารละลายน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 1 2 และ 5 และน้ำกลั่น ปริมาตรอย่างละ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
3. ปิเปตสารละลาย Benedict's ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองข้างต้น ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex
4. นำหลอดทดลองใส่ในบีกเกอร์ 500 มิลลิลิตร ที่มีน้ำเดือด ต้มเป็นเวลา 3 นาที
5. สังเกตสีของสารละลายในหลอดทดลอง และบันทึกผลการทดลอง

บันทึกผลการทดลอง

ตารางที่ 3 กิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส โดยการทดสอบหาน้ำตาล

สารละลาย	สีของสารละลายในหลอดทดลองหลังจากต้ม
สารละลายหลังทำปฏิกิริยาเอนไซม์อะไมเลส	
สารละลายน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 2	
สารละลายน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 1	
สารละลายน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 5	
น้ำกลั่น	

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์

วัตถุประสงค์ เพื่อให้ให้นักศึกษาสามารถวิเคราะห์ สร้างกราฟมาตรฐาน และคำนวณปริมาณโปรตีนได้

เนื้อหา

โปรตีน

โปรตีนเป็นสารประกอบชีวเคมี ซึ่งประกอบด้วยพอลิเพปไทด์หนึ่งสายหรือมากกว่า ที่พับกันเป็นรูปทรงกลมหรือเส้นใย โดยทำหน้าที่อำนวยความสะดวกทางชีววิทยา พอลิเพปไทด์เป็นพอลิเมอร์สายเดี่ยวที่เป็นเส้นตรงของกรดอะมิโนที่เชื่อมเข้ากันด้วยพันธะเพปไทด์ระหว่างหมู่คาร์บอกซิลและหมู่เอมิโนของกรดอะมิโนเหลือค้าง (residue) ที่อยู่ติดกัน ลำดับกรดอะมิโนในโปรตีนกำหนดโดยลำดับของยีน ซึ่งเข้ารหัสในรหัสพันธุกรรม โดยทั่วไป รหัสพันธุกรรมประกอบด้วยกรดอะมิโนมาตรฐาน 20 ชนิด อย่างไรก็ตาม สิ่งมีชีวิตบางชนิดอาจมีซีลีโนซิสตีอีน และไพร์โรไลซีนในกรณีของสิ่งมีชีวิตโดเมนอาร์เคียบางชนิด ในรหัสพันธุกรรมด้วย ไม่นานหรือระหว่างการสังเคราะห์ สารเหลือค้างในโปรตีนมักมีชั้นปรับแต่งทางเคมีโดยกระบวนการการปรับแต่งหลังทรานสเลชัน (posttranslational modification) ซึ่งเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี การจัดเรียง ความเสถียร กิจกรรม และที่สำคัญที่สุด หน้าที่ของโปรตีนนั้น บางครั้งโปรตีนมีกลุ่มที่มิใช่เพปไทด์ติดอยู่ด้วย ซึ่งสามารถเรียกว่า โปรสทีติ (prosthetic group) หรือโคแฟกเตอร์ โปรตีนยังสามารถทำงานร่วมกันเพื่อบรรลุหน้าที่บางอย่าง และบ่อยครั้งที่โปรตีนมากกว่าหนึ่งชนิดรวมกันเพื่อสร้างโปรตีนเชิงซ้อนที่มีความเสถียร (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 11 มีนาคม 2563)

โปรตีนเร่งปฏิกิริยา

สารประเภทโปรตีนที่มีหน้าที่เร่งปฏิกิริยาเคมีในสิ่งมีชีวิต โครงสร้างของเอนไซม์ประกอบด้วยสายเปปไทด์ (สายโซ่ที่มีกรดอะมิโน ซึ่งเป็นหน่วยย่อยของโปรตีนมาเรียงต่อกัน) ตั้งแต่สายเดี่ยว ไปจนถึงหลายสายขึ้นอยู่กับชนิดของเอนไซม์ โดยสายเปปไทด์จะพับทบกันจนเกิดเป็นโครงสร้าง 3 มิติ และมีส่วนหนึ่งในโครงสร้างเป็นตำแหน่งที่จับกับสารตั้งต้น ซึ่งเราเรียกว่า **active site** ของเอนไซม์ ในเอนไซม์ 1 โมเลกุล อาจมีเพียงหนึ่งหรือหลาย active site (กองบรรณาธิการ HD, 2020)

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

Biuret assay เป็นการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยเครื่อง spectrophotometer การทำปฏิกิริยาของ biuret ในการวิเคราะห์ตัวอย่าง ใช้หลักการการจับกันของ ไนโตรเจนในสาย polypeptides กับ cupric ion ในสถานะที่เป็นต่างแก่ ในการวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับ biuret reagent ซึ่งเป็น alkaline copper sulfate solution เมื่อสารละลายโปรตีนในตัวอย่างทำปฏิกิริยากับ cupric ions (Cu^{2+}) ใน

สภาวะที่เป็นต่างจะฟอร์มเป็น Cu^{2+} - peptide complex ให้สีม่วง สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเครื่อง spectrophotometer ในช่วง visible region (ประมาณ 540-550 nm) ความเข้มของสีเป็นสัดส่วนกับจำนวนของ peptide bonds ที่ทำปฏิกิริยา ซึ่งปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นกับ peptide bonds จำนวนอย่างน้อย 2 พันธะขึ้นไป (di-, tri-, oligo- และ polypeptides) สามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในช่วงความเข้มข้นประมาณ 1-10 mg/ml (วชิราพรรณ บุญญาพิพิงศ, 2555)

อุปกรณ์/เครื่องมือ

1. ข้าวหมักเชื้อรา *Monascus* sp. YRU01
2. สารละลาย soluble starch ร้อยละ 1
3. สารละลายน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 5
4. สารละลาย 0.1 M acetate buffer (pH 5.0)
5. สารละลายโบวีนซีรัมอัลบูมิน (Bovine serum albumin: BSA)
6. สารละลายไอยูเรต
7. ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
8. หลอดเซนตริฟิวส์ขนาด 50 มิลลิลิตร
9. หลอดทดลองขนาด 16 x 100 มิลลิเมตร
10. บีกเกอร์ 100 และ 500 มิลลิลิตร
11. ที่วางหลอดทดลอง (rack)
12. eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
13. เครื่องเซนตริฟิวส์
14. เครื่องเขย่า
15. ตาชั่ง 4 ตำแหน่ง
16. Vortex
17. Hot plate
18. จุกยางอุดตัวอย่าง
19. ซ้อนตักสาร
20. ปากกา label

การเตรียมสารละลายมาตรฐานโปรตีน

1. ชั่งโบวีนซีรัมอัลบูมิน (Bovine serum albumin: BSA) ปริมาณ 0.1 กรัม ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร คนจนละลาย จากนั้นเติมสารละลายลงในขวดวัดปริมาตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 10 มิลลิลิตร
2. เจือจางสารละลายโบวีนซีรัมอัลบูมิน ให้ได้ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 และ 400 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร โดยปิเปตสารละลายข้อที่ 1 ปริมาตร 0, 0.5, 1, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 และ 4.0 มิลลิลิตร ตามลำดับ มาปรับปริมาตรของแต่ละหลอดให้ได้ 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเตรียมสารละลายไอยูเรต

ซึ่ง copper (II) sulphate pentahydrate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) ปริมาณ 0.15 กรัม และ sodium potassium tartrate ($\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ปริมาณ 0.6 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติม 10% NaOH

ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดพลาสติกที่อุณหภูมิห้อง

การทดลองปฏิบัติการ

การสกัดโปรตีนเร่งปฏิกิริยา

1. เขียนฉลาก ได้แก่ ชื่อกลุ่ม วันเดือนปี บนหลอดเซนตริฟิวส์
2. ชั่งข้าวที่ผ่านการหมักสารสีด้วยเชื้อรา *Monascus* sp. YRU01 ให้ได้ปริมาณ 1 กรัม ลงในหลอดเซนตริฟิวส์ บันทึกน้ำหนัก
3. ปิเปต 0.1 M acetate buffer (pH 5.0) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดเซนตริฟิวส์ข้างต้น
4. นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
5. นำมาปั่นเหวี่ยงที่ 7,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
6. ค่อยๆ รินส่วนใสลงในหลอดเซนตริฟิวส์หลอดใหม่

การทดสอบหาโปรตีน

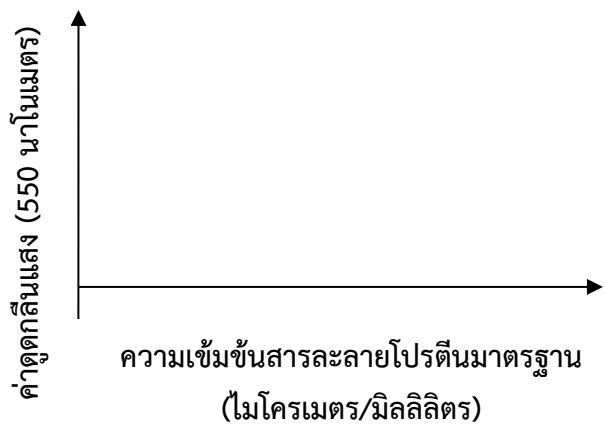
1. เขียนฉลาก ได้แก่ ชื่อกลุ่ม ชื่อตัวอย่าง วันเดือนปี บนหลอดทดลอง
2. ปิเปตสารละลายจากข้อที่ 6 สารละลายโบวินซีรัมอัลบูมิน ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 และ 400 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ปริมาตรอย่างละ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
3. ปิเปตสารละลายไอยูเรต ปริมาตรหลอดละ 4 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองข้างต้น ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex
4. ปิเปตสารละลายข้างต้นลงใน 96 well plate ปริมาตรหลอดละ 500 ไมโครลิตร
5. นำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร
6. บันทึกผลการทดลอง
7. สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมินกับค่าดูดกลืนแสง และหาสมการเส้นตรง โดยใช้โปรแกรม excel เพื่อหาค่าความชันของกราฟมาตรฐาน
8. คำนวณปริมาณโปรตีน และบันทึกผลการทดลอง

บันทึกผลการทดลอง

ตารางที่ 4 ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน (BSA)

ความเข้มข้นสารมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าดูดกลืนแสง (550 นาโนเมตร)				
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	ค่า SD
0					
50					
100					
150					
200					
250					
300					
400					

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมินกับค่าดูดกลืนแสง



ค่าความชัน (slope) ของกราฟมาตรฐานของโปรตีน (BSA) เท่ากับ..... R^2 เท่ากับ.....

ตารางที่ 5 ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (550 นาโนเมตร)					ความเข้มข้นโปรตีนในตัวอย่าง (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
1	2	3	ค่าเฉลี่ย	ค่า SD	

การคำนวณ

ความเข้มข้นโปรตีนในตัวอย่าง (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) = $\frac{\text{ค่าเฉลี่ย} \times \text{ความชัน}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}}$

โดย ปริมาตรตัวอย่าง (มิลลิลิตร) = 1

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

.....

.....

.....

