

## บทที่ 4

### การสกัดแยกและวิเคราะห์ lipid

#### วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้ทราบวิธีการในการแยกและสกัด lipid จากเมล็ดพืชอย่างง่าย
2. เพื่อให้เข้าใจหลักการและวิธีการในการหาปริมาณ triglyceride ใน lipid ที่สกัดมาได้
3. เพื่อให้เข้าใจหลักการและวิธีการในการหาปริมาณ cholesterol จากสารตัวอย่าง

#### บทนำ

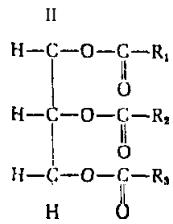
Lipid หมายถึง กลุ่มของชีวโมเลกุลที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละชนิดได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น ether, chloroform และ alcohol เป็นต้น ผลลัพธ์คือ lipid ที่มีสถานะภาพเป็นของแข็งจะเรียกว่า "ไขมัน (fats)" ส่วน lipid ที่มีสถานะเป็นของเหลวจะเรียกว่า "น้ำมัน (oils)" น้ำมันและไขมันเป็นสารที่ให้พลังงานสูง จึงเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญ อาหารแต่ละประเภทจะไม่มีไขมัน และไขมันปริมาณที่แตกต่างกัน เช่น เมล็ดและผลไม้ส่วนใหญ่จะมีสารอาหารประเภทนี้ค่อนข้างต่ำ พวกเนื้อสัตว์จะมีมากน้อยขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่สะสมของไขมันและน้ำมัน ส่วนพวกเมล็ดพืช เช่น ถั่วเมล็ดแห้งจะมีปริมาณน้ำมัน และไขมันปริมาณค่อนข้างสูงจึงสามารถสกัดเอาน้ำมันมาใช้บริโภคได้ เช่น ถั่วลิสงมี lipid ประมาณ 45-50 % และถั่วเหลืองมี lipid ประมาณ 15-20 %

#### การสกัด lipid เพื่อใช้ในการปรุงอาหาร กระทำได้ 2 วิธี

1. วิธีธรรมชาติ ทำโดยการบีบอัด หรือใช้ค้อนทุบประมาณ 70-90 องศาเซลเซียส ร่วมกับการบีบอัด เพื่อช่วยลดความชื้นและทำลายเอ็นไซม์บางชนิดที่เกี่ยวข้องกับการเน่าสลายและกลิ่น จากนั้นจึงตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ทำการกรองหรือเข้าเครื่องเหวี่ยงเพื่อแยกเอากากออก
2. วิธีผ่านขบวนการ ทำโดยการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ สกัดละลาย lipid ออกมา จากนั้นจึงทำการระเหยแยกเอาตัวทำละลายอินทรีย์ออก

น้ำมันหรือไขมันที่สกัดได้ เรียกว่า "น้ำมันดิบ (crude oil)" จะพบปริมาณของ triglyceride ค่อนข้างสูง (98%) เนื่องจากสะสมไว้เป็นพลังงานในเมล็ดพืช triglyceride จัดอยู่ในประเภท simple lipid ซึ่งเป็น ester ระหว่าง glycerol กับ fatty acid สามารถเขียนสูตรโครงสร้างได้ดังรูปที่ 4.1 คุณสมบัติของ triglyceride ที่สกัดได้ขึ้นอยู่กับชนิด

7.นอกจากการใช้ Copper solution และ Nelson's reagent ในการ  
หาปริมาณ glucose นักศึกษาคิดว่ามีวิธีการอื่น ๆ ที่ใช้ได้หรือไม่ จงอธิบาย



**รูปที่ 4.1** แสดงสูตรโครงสร้างของ triglyceride

ของ fatty acid ที่เป็นองค์ประกอบเช่น triglyceride จาก butyric acid เรียกว่า "tributyrin" จะมีจุดหลอมเหลว -75 องศาเซลเซียส , triglyceride จาก stearic acid เรียกว่า "tristearin" จะมีจุดหลอมเหลว 71 องศาเซลเซียส และ triglyceride จาก oleic acid เรียกว่า "triolein" จะมีจุดหลอมเหลว -17 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปแล้ว triglyceride ที่พบในธรรมชาติจะมาจาก fatty acid หลากหลายตัวผสมกัน เราสามารถหาปริมาณของ triglyceride ได้โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดอนุพันธ์ของ lutidine หรือ Hantzsch reaction Lutidine ที่เกิดขึ้นนี้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสีเหลือง สามารถนำปฏิกิริยาดูดกลืนแสงที่ 410 nm. ได้ เมื่อใช้ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสารละลาย triglyceride มาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง จะทำให้สามารถคำนวณหาปริมาณ triglyceride ที่สกัดได้ ปฏิกิริยาดังกล่าวมีขั้นตอนดังนี้

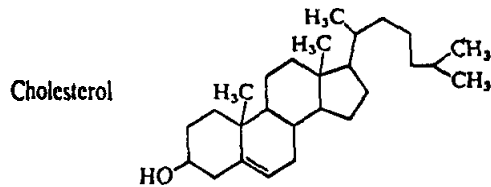
**ขั้นที่ 1** การเกิด saponification ของ lipid ที่สกัดได้ด้วยเบสได้ผลิตภัณฑ์เป็น glycerol

**ขั้นที่ 2** การเกิด oxidation ของ glycerol จากขั้นที่ 1 ด้วย sodium metaperiodate ได้ผลิตภัณฑ์เป็น formaldehyde

**ขั้นที่ 3** การเกิด reaction ระหว่าง formaldehyde กับ acetyl acetone ได้อนุพันธ์ lutidine เป็นผลิตภัณฑ์

เนื่องจาก lipid จัดเป็นสารอาหารที่มีความสำคัญต่อมนุษย์ในแง่โภชนาการเพราะให้พลังงานมากที่สุด สารอาหาร lipids มีทั้งที่มาจากกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว กรดไขมันบางชนิดร่างกายสังเคราะห์เองไม่ได้ จำเป็นต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัว เช่น linoleic acid และ linolenic acid เรียกกรดไขมันเหล่านี้ว่า "กรดไขมันจำเป็น" (essential fatty acid) ซึ่งพบในน้ำมันพืชทำโยยยกเว้นน้ำมันมะพร้าว กรดไขมันจำเป็นมีความสำคัญต่อร่างกายมาก คนที่ขาดกรดไขมันจำเป็น เป็นเวลานานอาจก่อให้เกิดโรคผิวหนังผื่นคัน

กรดไขมันจำเป็นยังช่วยลด cholesterol ในเลือดได้เพราะการพบ cholesterol ปริมาณ  
 มากๆ ในเลือด ( $\geq 300$  mg%) ก่อให้เกิดภาวะของหลอดเลือดตีบแข็งโดยเฉพาะหลอดเลือดหัวใจ  
 ดังนั้นในการบริโภคสารอาหารประเภทlipid จึงควรคำนึงถึงสาร cholesterol เช่นกัน  
 Cholesterol จัดอยู่ใน lipid ประเภทที่เรียกว่า "steroid" สูตรโครงสร้างแสดง ในรูปที่  
 4.2 cholesterol เป็นสารที่พบมากในสัตว์โดยเฉพาะมนุษย์ เนื่องจาก cholesterol



รูปที่ 4.2 แสดง สูตรโครงสร้างของ cholesterol

เป็นส่วนประกอบหนึ่งของเยื่อหุ้มเซลล์ เช่น เซลล์เม็ดเลือดแดงและยังเป็นสารตั้งต้นในการ  
 สังเคราะห์พิกฮอริโมนต่างๆ และน้ำดี เป็นต้น การหาปริมาณ cholesterol ที่มีในสารตัวอย่าง  
 น้ำมันที่สกัดได้ โดยการหาปฏิกิริยาของ cholesterol กับกรด  $H_2SO_4$  เข้มข้นและสารละลาย  
 ferric chloride ในกรดน้ำส้มจะได้สารละลายที่มีสีชมพูอมม่วง เป็นผลิตภัณฑ์ ซึ่งสามารถนํายา  
 อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 560nm. โดยค่าการดูดกลืนแสงดังกล่าวจะเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับปริมาณ  
 cholesterol ที่มีในสารตัวอย่าง

การทดลองจะแบ่งออกเป็น 3 ตอน คือ

ตอนที่ 1 เป็นการสกัดแยกน้ำมันจากเมล็ดพืช

ตอนที่ 2 เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณ triglyceride ในน้ำมันที่สกัดได้

ตอนที่ 3 เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol จากสารตัวอย่าง

**ตอนที่ 1** การสกัดแยกน้ำมันจากเมล็ดพืช

อุปกรณ์และวัสดุที่ใช้ต่อ 1 กลุ่มการทดลอง

- |                                 |                                      |
|---------------------------------|--------------------------------------|
| 1.Mortar และ pestle 1 ชุด       | 10.Rubber bulb และ tip 1 ชุด         |
| 2.Watch glass 2 ชุด             | 11.Beaker ขนาด 250 ml. 1ใบ           |
| 3.หลอดทดลองขนาด13X100 mm. 2หลอด | 12.Stirring rod 1 อัน                |
| 4.Test tube holder 1 อัน        | 13.Wash bottle 1 ขวด                 |
| 5.Evaporating dish 2 ใบ         | 14.Brush 1 อัน                       |
| 6.Cylinder ขนาด 10 ml. 1 ใบ     | 15.Aluminium foilขนาด 1X1นิ้ว 2 แผ่น |

7. Centrifuge tube 2 หลอด                      16. Parafilm ขนาด 1x1 นิ้ว 2 แผ่น  
 8. Dropper 1 อัน                                    17. เมล็ดพืช 2 ชนิด  
 9. Serological pipette ขนาด 1 ml. 1 อัน

สารเคมีที่ใช้ร่วมกัน

1. สารละลาย chloroform - methanol (1:2 โดยปริมาตร) พร้อม beaker  
 ขนาด 100 ml. จำนวน 1 ใบ และ cylinder ขนาด 10 ml. 2 ใบ  
 2. Isopropanol พร้อม beaker ขนาด 10 ml.

เครื่องมือที่ใช้ร่วมกัน

1. Toploading balance (2 decimal points)  
 2. Water bath พร้อม steel rack จำนวน 3 ชุด  
 3. Oven  
 4. Centrifuge และ two-pan balance

วิธีทดลอง

1. นำเมล็ดพืชแช่น้ำให้นุ่ม จากนั้นแบ่งมา 5 g. บดให้ละเอียดใน mortar และ pestle  
 2. เทใส่ watch glass นำไปอบให้แห้งใน Oven (50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชม.)  
 3. ชั่งผงเมล็ดพืชที่ได้ 1 g. ใสลงใน mortar ทำการบดให้ละเอียดอีกครั้งด้วย pestle  
 4. ทำการสกัดน้ำมันโดยเติมสารละลาย chloroform - methanol ลงใน mortar  
 5 ml. บดต่ออีก 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้ตะกอนนอนกัน แล้วจึงดูดส่วนน้ำใส evaporating  
 dish ที่ทราบน้ำหนัก  
 5. ทำการสกัดเช่นเดียวกับข้อ 4 อีก 2 ครั้ง จากนั้นดูดส่วนน้ำใส evaporating dish  
 แล้วจึงนำประเหยเอาตัวทำละลายออกบน water bath ให้เหลือปริมาณน้อยที่สุด นำ  
 evaporating dish ไปชั่งหาน้ำหนัก  
 6. ดูดส่วนน้ำใส cylinder ขนาด 10 ml เติม isopropanol ลงไปละลายน้ำมันใน  
 evaporating dish เทส่วนน้ำใส cylinder จนกระทั่งได้ปริมาตร 5 ml. ผสมเข้าที่  
 เข้ากัน จากนั้นเทใส่ centrifuge tube ติดฉลากกลุ่มที่เรียบร้อย  
 7. นำไป centrifuge ที่ 2,500 rpm เป็นเวลา 10 นาที  
 8. เทส่วนน้ำใสหลอดทดลองติดฉลากกลุ่มและ Sample ชนิดที่ 1 และ 2 ให้เรียบร้อย ปิด  
 ปากหลอดทดลองด้วย aluminium foil และ parafilm นำไปแช่ในภาชนะรวมที่  
 4 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงนำ evaporating dish ไปชั่งหาน้ำหนักของน้ำมันที่  
 ถูกสกัดออกไป

## ตอนที่ 2 การวิเคราะห์หาปริมาณ triglyceride ในน้ำมันที่สกัดได้

### อุปกรณ์และ วัสดุที่ใช้ต่อ 1 กล่มการทดลอง

- |   |                                  |                 |
|---|----------------------------------|-----------------|
| 1. หลอดทดลองขนาด 13X100 mm. 12 หลอดพร้อม rack | 6. Dropper                       | 1 อัน           |
| 2. Test tube holder                           | 1 อัน                            | 7. Stirring rod |
|   |                                  | 1 อัน           |
| 3. Beaker ขนาด 250 จำนวน 1 ใบ                 | 8. Wash bottle                   | 1 ขวด           |
| 4. Serological pipette ขนาด 1 ml. 6 อัน       | 9. Brush                         | 1 อัน           |
| 5. Rubber bulb และ tip 1 ชุด                  | 10. Aluminium foil ขนาด 1X1 นิ้ว | 8 แผ่น          |

### สารเคมีที่ใช้ร่วมกัน

1. Isopropanol พร้อม beaker ขนาด 100 ml. จำนวน 1 ใบ และ serological pipette ขนาด 1 ml. 1 อัน และ ขนาด 10 ml. จำนวน 1 อัน
2. KOH solution พร้อม beaker ขนาด 100 ml. และ burette
3. Sodium metaperiodate solution พร้อม beaker ขนาด 100 ml. และ burette
4. Acetyl acetone solution พร้อม beaker ขนาด 100 ml. จำนวน 1 ใบ และ serological pipette ขนาด 10 ml. จำนวน 2 อัน
5. สารละลายมาตรฐาน triolein ความเข้มข้น 2 mg/ml, 4 mg/ml และ 8 mg/ml พร้อม Serological pipette ขนาด 1 ml. จำนวน 2 อัน ต่อ 1 ความเข้มข้น

### เครื่องมือที่ใช้ร่วมกัน

1. Water bath
2. Spectrophotometer พร้อม cuvette

### วิธีทดลอง

1. ก่อนนำ Sample 1 และ 2 มาวิเคราะห์หาปริมาณ triglyceride ควรเจือจางด้วย isopropanol 4 เท่า และ 8 เท่า ดังนี้
  - 1.1 Pipette สารใน Sample 1 หรือ 2 มา 1 ml. เติม isopropanol 3 ml. ผสมให้เข้ากันติดฉลากว่าเป็น Sample 1 (4 เท่า) หรือ Sample 2 (4 เท่า) ตามลำดับ
  - 1.2 Pipette สารใน Sample 1 (4 เท่า) หรือ Sample 2 (4 เท่า) จากข้อ 1 มา 1 ml. เติม isopropanol 1 ml. ผสมให้เข้ากันติดฉลากว่าเป็น Sample 1 (8 เท่า) หรือ Sample 2 (8 เท่า) ตามลำดับ
2. Pipette isopropanol, สารละลายมาตรฐาน triolein ความเข้มข้น 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml, Sample 1 (4 เท่า), Sample 1 (8 เท่า), Sample 2 (4 เท่า)

- และ Sample 2(8เท่า) อย่างละ 0.1 ml. ลงในหลอดทดลองที่ 1-8 ตามลำดับ
- 3.เติม KOH solution ลงไปหลอดละ 1 ml. ผสมให้เข้ากัน จากนั้นปิดปากหลอดด้วย aluminium foil
  - 4.นำใบดูดที่ 60 องศาเซลเซียส 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
  - 5.เติม sodium metaperiodate solution ลงไปหลอดละ 1 ml. ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติม acetyl acetone solution ลงไปหลอดละ 1 ml. ผสมให้เข้ากัน
  - 6.นำใบดูดที่ 60 องศาเซลเซียส 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
  - 7.นำใบอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 nm. โดยใช้หลอดที่ 1 เป็น blank

ตอนที่ 3 การวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol จากสารตัวอย่าง

อุปกรณ์และวัสดุที่ใช้อีก 1 กรัมการทดลอง

- 1.หลอดทดลองขนาด 16X150 mm. 7 หลอดพร้อม rack 5. Stirring rod 1 อัน
2. Beaker ขนาด 100 ml. 1 ใบ 6. Wash bottle 1 ขวด
3. Serological pipette ขนาด 1 ml. 1 อัน 7. Brush 1 อัน
4. Rubber bulb และ tip 1 ชุด

สารเคมีที่เข้าร่วมกัน

1. Glacial acetic acid พร้อม beaker ขนาด 260 ml. และ burette (ตั้งงานตู้ควัน)
2.  $H_2SO_4$  conc. พร้อม beaker ขนาด 250 ml. และ burette (ตั้งงานตู้ควัน)
3.  $FeCl_3$  reagent พร้อม beaker ขนาด 100 ml. และ burette
4. สารละลายมาตรฐาน cholesterol ใน glacial acetic acid 0.5 mg/ml พร้อม serological pipette ขนาด 1 ml.
5. Unknown ชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 พร้อม serological pipette ขนาด 1 ml. ชนิดละ 1 อัน

เครื่องมือที่เข้าร่วมกัน

1. Spectrophotometer พร้อม cuvette
2. ตู้ควัน

วิธีทดลอง

1. เตรียมหลอดทดลองจำนวน 7 หลอด เติมสารต่าง ๆ ตามตารางดังนี้

สาร	ปริมาณที่เติม(ml.)						
	1	2	3	4	5	6	7
น้ำกลั่น	0.1	0.1	0.1	-	-	-	-
สารละลายมาตรฐาน cholesterol	-	0.1	0.2	-	-	-	-
Unknown 1	-	-	-	0.1	0.2	-	-
Unknown 2	-	-	-	-	-	0.1	0.2
Glacial acetic acid	0.3	0.2	0.1	0.3	0.2	0.3	0.2

2. เขย่าให้เข้ากันทุกหลอด จากนั้นเติม  $\text{FeCl}_3$  reagent ลงไปหลอดละ 3 ml. ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
3. เติม  $\text{H}_2\text{SO}_4$  conc. ลงไปหลอดละ 2 ml. ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็น 30 นาที
4. นำไปอ่านค่าการดูดกลืนที่ 560 nm. ระบายหลอดที่ 1 เป็น blank

#### การเตรียมสารละลายบางชนิดที่ใช้ในการทดลอง

##### 1. KOH solution

ละลาย potassium hydroxide 10g. ในน้ำกลั่น 120 ml. แล้วจึงเติม isopropanol ลงไป 80 ml. ผสมให้เข้ากัน

##### 2. Sodium metaperiodate solution

ละลาย sodium metaperiodate 0.163 g. และ aluminium acetate 20 g. ในน้ำกลั่น 50 ml. เติม glacial acetic acid 15 ml. จากนั้นเติมน้ำกลั่นปรับให้มีปริมาตร 250 ml.

##### 3. Acetyl acetone solution (เตรียมในตู้เย็น)

ละลาย 1.5 ml. ของ acetyl acetone (2,4 -pentanedione) ใน isopropanol 200 ml.

##### 4. $\text{FeCl}_3$ reagent (เตรียมในตู้เย็น)

ละลาย  $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  0.25 g. ใน glacial acetic acid 300 ml.



รายงานผลการทดลอง

เรื่อง การสกัดแยกและวิเคราะห์ lipid

ชื่อผู้ทดลองและ เขียนรายงาน \_\_\_\_\_ รหัส \_\_\_\_\_ เลขที่ \_\_\_\_\_

ชื่อผู้ร่วมทดลอง 1. \_\_\_\_\_ รหัส \_\_\_\_\_ เลขที่ \_\_\_\_\_

2. \_\_\_\_\_ รหัส \_\_\_\_\_ เลขที่ \_\_\_\_\_

กลุ่มที่ \_\_\_\_\_ Section/วันที่ทำการทดลอง \_\_\_\_\_ เวลา \_\_\_\_\_

ห้องที่ทำการทดลอง \_\_\_\_\_

อาจารย์ผู้ควบคุมการทดลอง 1. \_\_\_\_\_

2. \_\_\_\_\_

**ตอนที่ 1** ผลการสกัดแยกน้ำมันจากเมล็ดพืช

ชื่อสารตัวอย่าง		
ปริมาณสารตัวอย่างที่ใส่	_____ g.	_____ g.
ปริมาณน้ำมันที่ได้	_____ g.	_____ g.
% yield		

**ตอนที่ 2** ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ triglyceride ในน้ำมันที่สกัดได้จากตอนที่ 1

ชื่อสารตัวอย่าง		
ปริมาณน้ำมันที่ได้	_____ ml.	_____ ml.
เติม isopropanol จนได้ปริมาตร	_____ ml.	_____ ml.
นำมาเจือจาง ครั้งแรก	_____ เท่า	_____ เท่า
นำมาเจือจาง ครั้งที่สอง	_____ เท่า	_____ เท่า

หลอด ที่	สารที่ใช้ปริมาตร 0.1 ml.	OD <sub>410</sub>	ปริมาณ triglyceride (mg.)	ความเข้มข้น triglyceride (mg/ml)
1	Isopropanol			
2	สารละลายมาตรฐานtriolein 2 □ g/ml			
3	สารละลายมาตรฐานtriolein 4 mg/ml			
4	สารละลายมาตรฐานtriolein 8 mg/ml			
5	สารตัวอย่าง...Sample 1(.....เท่า)			
6	Sample 1(.....เท่า)			
7	สารตัวอย่าง...Sample 2(.....เท่า)			
8	สารตัวอย่าง...Sample 2(.....เท่า)			

กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD<sub>410</sub> และปริมาณ triglyceride (mg.)

ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง.....Sample 1 (.....เท่า) = \_\_\_\_\_mg/ml

Sample 1 (.....เท่า) = \_\_\_\_\_mg/ml

ค่าเฉลี่ย ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง.....Sample 1 = \_\_\_\_\_mg/ml

ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง.....Sample 2 (.....เท่า) = \_\_\_\_\_mg/ml

Sample 2 (.....เท่า) = \_\_\_\_\_mg/ml

ค่าเฉลี่ย ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง.....Sample 2 = \_\_\_\_\_mg/ml

% triglyceride ที่พบในน้ำมันสารตัวอย่าง .....= \_\_\_\_\_

% triglyceride ที่พบในน้ำมันสารตัวอย่าง .....= \_\_\_\_\_

ปริมาณ triglyceride ที่พบในสารตัวอย่าง .....หนัก 1g. = .....mg.

ปริมาณ triglyceride ที่พบในสารตัวอย่าง .....หนัก 1g. = .....mg.

วิธีคำนวณหาปริมาณ triglyceride ในสารตัวอย่าง

สรุปและวิเคราะห์ผลการทดลอง

**ตอนที่ 3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol ในสาร unknown**

สารหรือค่าต่างๆ	ปริมาณที่ใช้หรือปริมาณค่าต่าง ๆ						
	1	2	3	4	5	6	7
น้ำกลั่น+glacial acetic acid	0.4ml	0.3ml	0.2ml	0.3ml	0.2ml	0.3ml	0.2ml
สารละลายมาตรฐาน cholesterol	-	0.1ml	0.2ml	-	-	-	-
Unknown 1	-	-	-	0.1ml	0.2ml	-	-
Unknown 2	-	-	-	-	-	0.1ml	0.2ml
OD <sub>560</sub>							
ปริมาณcholesterol(ug)							
ความเข้มข้น cholesterol (mg/100 ml)							

ความเข้มข้น cholesterol ของสาร Unknown 1 ในหลอดที่ 4 = \_\_\_\_\_ mg/100ml

ความเข้มข้น cholesterol ของสาร Unknown 1 ในหลอดที่ 5 = \_\_\_\_\_ mg/100ml

ความเข้มข้น cholesterol เฉลี่ยของสาร Unknown 1 = \_\_\_\_\_ mg/100ml

ความเข้มข้น cholesterol ของสาร Unknown 2 ในหลอดที่ 6 = \_\_\_\_\_ mg/100ml

ความเข้มข้น cholesterol ของสาร Unknown 2 ในหลอดที่ 7 = \_\_\_\_\_ mg/100ml

ความเข้มข้น cholesterol เฉลี่ยของสาร Unknown 2 = \_\_\_\_\_ mg/100ml

วิธีคำนวณหาความเข้มข้น cholesterol ในสาร Unknown

สรุปและวิเคราะห์ผลการทดลอง

คำถาม

1. นอกจากเมลิคั่วที่พบ triglyceride แล้ว มีแหล่งใดที่สามารถพบ triglyceride ได้อีก

2. การสกัดจากข้อ 1 ในแหล่งดังกล่าวควรทำอย่างไร

3. จงบอกคุณสมบัติของน้ำมันที่สามารถใช้ในการปรุงอาหาร

4. เหตุใดจึงพยายามที่จะลด cholesterol ในน้ำมันและทำได้อย่างไร

5. ข้อแตกต่างระหว่างน้ำมันปาล์ม, น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันรำข้าว

---

6. ปัจจุบันน้ำมันที่ใช้ในการปรุงอาหารนิยมใช้วิธีการใด เพราะเหตุใด

7.  $OD_{410}$  เป็นค่าการดูดกลืนแสงของสารใด จงอธิบาย เหตุใดจึงใช้ assay หาปริมาณ triglyceride ได้

8. วิธีการตามข้อ 7 ใช้กับ lipid อื่นได้หรือไม่ เพราะเหตุใด

9. ข้อแตกต่างในการ assay หาปริมาณสาร lipid จากตอนที่ 2 และ 3 นั้น ต่างต่างกันหรือไม่ ให้เปรียบเทียบ