



คู่มือปฏิบัติการงาน การเตรียมสารเคมีและอุปกรณ์ ในรายวิชาปฏิบัติการการชีวเคมี 1 (211317)



นายพรชัย จันตา

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

คำนำ

ห้องปฏิบัติการชีวเคมีเป็นหัวใจสำคัญของการเรียนการสอนและการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพและเคมีที่ไม่เพียงส่งเสริมการเรียนรู้เชิงปฏิบัติ แต่ยังเป็นพื้นฐานของการพัฒนางานวิจัยคุณภาพสูง อย่างไรก็ตาม การดำเนินงานในห้องปฏิบัติการมักเผชิญกับความท้าทายหลายประการ ทั้งในด้านการจัดการสารเคมีและอุปกรณ์ การควบคุมคุณภาพการทดลอง ตลอดจนการรักษามาตรฐานความปลอดภัย ซึ่งปัญหาดังกล่าวอาจส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการทำงานและความน่าเชื่อถือของผลการทดลอง

เนื้อหาในคู่มือได้รวบรวมขั้นตอนการเตรียมการก่อนปฏิบัติการ (Pre-lab preparation) การจัดการระหว่างปฏิบัติการ (During lab session) และการจัดการหลังปฏิบัติการ (Post-lab management) อย่างละเอียด พร้อมคำแนะนำด้านความปลอดภัยและวิธีการจัดการสารเคมีและอุปกรณ์อย่างถูกต้อง โดยเน้นการปฏิบัติตามมาตรฐานสากล

นายพรชัย จันตา

ปีพุทธศักราช 2568

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	ก
สารบัญ	ข
สารบัญรูปภาพ	ง
สารบัญตาราง	จ
บทที่ 1 บทนำ	
1. ความเป็นมาและความสำคัญของคู่มือ	1
2. วัตถุประสงค์	1
3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
4. ขอบเขตของคู่มือ	2
4.1 การเตรียมการก่อนปฏิบัติการ (Pre-lab preparation)	2
4.2 การจัดการระหว่างปฏิบัติการ (During lab session)	2
4.3 การจัดการหลังปฏิบัติการ (Post-lab management)	3
5. นิยามคำศัพท์เฉพาะ/คำจำกัดความ	3
บทที่ 2 โครงสร้างและพันธกิจหลักของหน่วยงาน	
1. โครงสร้างและพันธกิจหลักคณะวิทยาศาสตร์	4
2. โครงสร้างและภารกิจหลักภาควิชาเคมี	5
3. บทบาทและหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ ระดับปฏิบัติการ	5
3.1 ภาระงานหลัก	6
3.2 ภาระงานที่ได้รับมอบหมายอื่นๆ	6
3.3 งานเพื่อการพัฒนา	6
บทที่ 3 หลักเกณฑ์ วิธีการปฏิบัติงาน	
1. จริยธรรมของผู้ปฏิบัติงาน	7
1.1 จริยธรรมต่อตนเองและวิชาชีพ	7
1.2 จริยธรรมต่อหน่วยงาน	8
1.3 จริยธรรมต่อผู้บังคับบัญชา ผู้ใต้บังคับบัญชา และผู้ร่วมงาน	8
1.4 จริยธรรมต่อผู้เรียน ผู้รับบริการ ประชาชน และสังคม	9

สารบัญ(ต่อ)	หน้า
2. ระเบียบและข้อปฏิบัติที่เกี่ยวข้อง	9
2.1 ข้อปฏิบัติทั่วไปในการใช้ห้องปฏิบัติการ	9
2.2 การตอบโต้เหตุฉุกเฉินในห้องปฏิบัติการ	10
2.3 ระบบสัญลักษณ์แสดงอันตรายของสารเคมี	13
2.3.1 ระบบ GHS	13
2.3.2 ระบบ NFPA 704	14
2.3.3 ระบบ UN	16
2.4 การจัดการของเสียในห้องปฏิบัติการเคมี	17
บทที่ 4 ขั้นตอนการปฏิบัติงาน	
1. แผนงานประจำปีของห้องปฏิบัติการ	21
2. วิธีการและรายละเอียดการปฏิบัติงาน	23
ปฏิบัติการที่ 1 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์	24
ปฏิบัติการที่ 2 กรดนิวคลีอิก 1 – การสกัดและการวิเคราะห์หาปริมาณ กรดนิวคลีอิก	29
ปฏิบัติการที่ 3 กรดนิวคลีอิก 2 – สมบัติของกรดนิวคลีอิก	38
ปฏิบัติการที่ 4 โพรตีน 1 – กรดอะมิโนและโพรตีน	43
ปฏิบัติการที่ 5 โพรตีน 2 – การวิเคราะห์หาปริมาณโพรตีน	53
ปฏิบัติการที่ 6 คาร์โบไฮเดรต 1 – การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ	59
ปฏิบัติการที่ 7 คาร์โบไฮเดรต 2 – การวิเคราะห์หาปริมาณและการแยก	66
ปฏิบัติการที่ 8 ลิพิด	72
ปฏิบัติการที่ 9 เอนไซม์ 1 – การทำงานของเอนไซม์	80
ปฏิบัติการที่ 10 เอนไซม์ 2 – จลนพลศาสตร์ของเอนไซม์	87
บทที่ 5 ปัญหาอุปสรรค แนวทางแก้ไขและพัฒนา	92
เอกสารอ้างอิง	95
ภาคผนวก ก	96
ภาคผนวก ข	100
ประวัติผู้เขียน	101

สารบัญรูปภาพ

รูปภาพ	หน้า
รูปภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างองค์กร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	4
รูปภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างสาขาวิชาต่างๆในภาควิชาเคมี	5
รูปภาพที่ 3 แสดงชุดสารเคมีและอุปกรณ์สำหรับการทดลองปฏิบัติการที่ 1	26
รูปภาพที่ 4 แสดงแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 1 (การเตรียมสารละลายสารละลายบัฟเฟอร์)	28
รูปภาพที่ 5 แสดงสารเคมีและอุปกรณ์สำหรับการสกัด DNA จากกล้วยน้ำว้า	33
รูปภาพที่ 6 แสดงสารเคมีและอุปกรณ์สำหรับการทดสอบ deoxyribose และ ribose	34
รูปภาพที่ 7 แสดงสารเคมีและอุปกรณ์สำหรับการทดสอบหมู่เบสและฟอสเฟต	34
รูปภาพที่ 8 แสดงแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 2 (กรดนิวคลีอิก 1)	37
รูปภาพที่ 9 แสดงรีเอเจนต์สำหรับการหาปริมาณ DNA ด้วยวิธี diphenylamine	40
รูปภาพที่ 10 แสดงวิธีการติดตั้ง viscometer	41
รูปภาพที่ 11 แสดงแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 3 (กรดนิวคลีอิก 2)	42
รูปภาพที่ 12 แสดงการจัดชุดสารเคมีสำหรับ Ninhydrin test, Sulphur test และ Biuret test	49
รูปภาพที่ 13 แสดงการจัดชุดสารเคมีสำหรับการตกตะกอนและการละลายของโปรตีน	49
รูปภาพที่ 14 แสดงชุดอุปกรณ์การทดลองการแยกและวิเคราะห์กรดอะมิโน	50
รูปภาพที่ 15 แผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 4 (โปรตีน 1)	52
รูปภาพที่ 16 แสดงการจัดชุดสารเคมี สำหรับการทดลองวิธี A ₂₈₀ และ Biuret	56
รูปภาพที่ 17 แสดงการจัดชุดสารเคมี สำหรับการทดลองวิธี Lowry และ Coomassie	56
รูปภาพที่ 18 แสดงแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 5 (โปรตีน 2)	58
รูปภาพที่ 19 แสดงการจัดชุดการทดสอบ Molisch, Anthrone และ Bial	63
รูปภาพที่ 20 แสดงการจัดชุดการทดสอบ Benedict, Fehling, Barfoed, Seliwanoff และ Iodine	63
รูปภาพที่ 21 แผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 6 (คาร์โบไฮเดรต 1)	65
รูปภาพที่ 22 แสดงการจัดชุดสารเคมีของการวิเคราะห์หาปริมาณ glucose โดยวิธี DNS	69
รูปภาพที่ 23 แสดงการจัดชุดสารเคมีของการทดลองการแยกสารผสมคาร์โบไฮเดรตโดย TLC	69
รูปภาพที่ 24 แสดงแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 7 (คาร์โบไฮเดรต 2)	71
รูปภาพที่ 25 แสดงการสกัดลิพิดจากไข่แดง	75
รูปภาพที่ 26 แสดงการจัดชุดสารสำหรับการแยกและวิเคราะห์ลิพิดในไข่แดงด้วย TLC	76
รูปภาพที่ 27 แสดงการจัดชุดสารสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณโคเลสเตอรอลด้วย Zak reagent	77
รูปภาพที่ 28 แสดงแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 8 (ลิพิด)	79

รูปภาพ	หน้า
รูปภาพที่ 29 แสดงการจัดชุดสารเคมีทดสอบ invertase เทสในยีสต์	83
รูปภาพที่ 30 แสดงการจัดชุดสารเคมีทดสอบ oxidase ในมันฝรั่ง	84
รูปภาพที่ 31 แสดงการจัดชุดสารเคมีทดสอบความจำเพาะของ oxidase	84
รูปภาพที่ 32 แสดงแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 9 (เอนไซม์ 1)	86
รูปภาพที่ 33 แสดงการจัดชุดการทดลองที่ 1 อิทธิพลของความเข้มข้นของสับสเตรต	89
รูปภาพที่ 34 แสดงแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 10 (เอนไซม์ 2)	91

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงสัญลักษณ์ในระบบ GHS	13
ตารางที่ 2 แสดงแผนดำเนินงานประจำปี	22
ตารางที่ 3 การจัดการของเสียของปฏิบัติการที่ 2 (กรดนิวคลีอิก 1)	35
ตารางที่ 4 ชนิดสารละลายโปรตีนและกรดอะมิโนที่ใช้ในแต่ละการทดลอง	45
ตารางที่ 5 การจัดการของเสียของปฏิบัติการที่ 4 (โปรตีน 1)	50
ตารางที่ 6 การจัดการของเสียของปฏิบัติการที่ 5 (โปรตีน 2)	57
ตารางที่ 7 การจัดการของเสียของปฏิบัติการที่ 6 (คาร์โบไฮเดรต 1)	62
ตารางที่ 8 การจัดการของเสียของปฏิบัติการที่ 7 (คาร์โบไฮเดรต 2)	70
ตารางที่ 9 การจัดการของเสียของปฏิบัติการที่ 8 (ลิพิด)	77
ตารางที่ 10 การจัดการของเสียของปฏิบัติการที่ 9 (เอนไซม์ 1)	83
ตารางที่ 11 สรุปปัญหาอุปสรรค แนวทางแก้ไขและพัฒนา	92
ตารางที่ 12 สรุปชนิดบัฟเฟอร์ที่ใช้ในกระบวนวิชาปฏิบัติการ 211317	96
ตารางที่ 13 การเตรียมสารละลาย acetate buffer ที่ความเข้มข้นและ pH ต่างๆ	97
ตารางที่ 14 การเตรียมสารละลาย 0.1 M phosphate buffer ที่ pH ต่างๆ	98
ตารางที่ 15 ส่วนประกอบของ homogenization buffer	98

บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของคู่มือ

คู่มือการปฏิบัติการทางชีวเคมีนี้จัดทำขึ้นเพื่อสนับสนุนการเรียนการสอนในกระบวนวิชา Biochemistry Laboratory I (211317) ซึ่งเปิดสอนสำหรับนักศึกษาจากหลากหลายสาขาวิชา ทั้งคณะวิทยาศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ และสาขาที่เกี่ยวข้อง ทั้งนี้เพื่อส่งเสริมให้ผู้เรียนพัฒนาทักษะเชิงปฏิบัติและเสริมสร้างความเข้าใจในเทคนิคพื้นฐานทางชีวเคมี เช่น การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ การวิเคราะห์กรดนิวคลีอิก การวัดความเข้มข้นของโปรตีน การศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์ เป็นต้น

ด้วยลักษณะการทดลองที่ต้องใช้เครื่องมือและสารเคมีหลายชนิด จำเป็นต้องมีความเอาใจใส่และระมัดระวัง รวมถึงต้องปฏิบัติตามมาตรฐานความปลอดภัยอย่างเคร่งครัด ดังนั้นการบริหารจัดการห้องปฏิบัติการจึงต้องมีความเป็นระบบและมีประสิทธิภาพ คู่มือฉบับนี้จึงเป็นแนวทางสำคัญสำหรับเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ซึ่งครอบคลุมภารกิจต่าง ๆ ตั้งแต่ การเตรียมอุปกรณ์และสารเคมี การสนับสนุนการเรียนการสอน การดูแลความปลอดภัยและการจัดการของเสียทางชีวเคมี

ในส่วนของบทบาทของเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการนับว่ามีความสำคัญอย่างยิ่งต่อความสำเร็จของการเรียนการสอนในกระบวนวิชานี้ โดยไม่เพียงแต่จัดเตรียมสิ่งอำนวยความสะดวก แต่ยังช่วยอำนวยความสะดวกให้ผู้เรียนสามารถปฏิบัติการได้อย่างถูกต้องและปลอดภัย ซึ่งสรุปได้ดังนี้

1. **ลดภาระอาจารย์และผู้ช่วยสอน (TA)** ด้วยการจัดสรรอุปกรณ์ให้เพียงพอต่อจำนวนนักศึกษาและแนะนำการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือเฉพาะทาง เป็นต้น
2. **สนับสนุนนักศึกษา** ให้สามารถทำปฏิบัติการได้อย่างถูกต้องและปลอดภัยด้วยการติดป้ายเตือนให้ระวังอันตรายจากกรด เบส เป็นต้น
3. **รักษามาตรฐานความปลอดภัย** ด้วยการจัดหา PPE (Personal Protective Equipment) ของนักศึกษาให้ครบถ้วนก่อนเริ่มทดลองเพื่อป้องกันอุบัติเหตุทางเคมีและชีวภาพ เป็นต้น
4. **จัดระบบข้อมูลเครื่องมือและสารเคมี** ให้เป็นระเบียบ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการจัดการทรัพยากรด้วยการกำหนดให้มีการตรวจสอบเครื่องมือก่อนเปิดภาคเรียนและหลังปิดภาคเรียน

ด้วยเหตุนี้ คู่มือปฏิบัติการฉบับนี้จึงเป็นเครื่องมือสำคัญที่จะช่วยให้การดำเนินงานในห้องปฏิบัติการเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ส่งผลดีต่อการเรียนรู้และยกระดับความปลอดภัยของทุกฝ่ายที่เกี่ยวข้อง

2. วัตถุประสงค์

คู่มือฉบับนี้มีวัตถุประสงค์หลักดังต่อไปนี้:

2.1 เพื่ออธิบายบทบาทและความรับผิดชอบของเจ้าหน้าที่ปฏิบัติการ ตั้งแต่การเตรียมการทดลอง การสนับสนุนระหว่างปฏิบัติการ และการจัดการหลังการทดลอง

2.2 เพื่อให้แนวทางเกี่ยวกับมาตรฐานความปลอดภัย ในการจัดเก็บและใช้สารเคมี รวมถึงการจัดการของเสีย

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่มีคู่มือปฏิบัติงานสำหรับการเตรียมสารเคมี และอุปกรณ์ในกระบวนวิชา Biochemistry Laboratory I (211317) สำหรับใช้เป็นแนวทางที่ถูกต้องและเป็นมาตรฐานเดียวกันในการปฏิบัติงานของเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการชีวเคมีและชีวเคมีนวัตกรรม ซึ่งจะช่วยให้การวางแผนและการดำเนินงาน เป็นไปอย่างมีระบบ มีประสิทธิภาพ และส่งเสริมให้เกิดผลสัมฤทธิ์ตามวัตถุประสงค์ของการเรียนการสอนในกระบวนวิชานี้

4. ขอบเขตของคู่มือ

คู่มือฉบับนี้ออกแบบมาเพื่อเป็นแนวทางปฏิบัติงานสำหรับเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่รับผิดชอบ กระบวนวิชา 211317 โดยครอบคลุมภารกิจหลัก 3 ระยะ ดังนี้

4.1 การเตรียมการก่อนปฏิบัติการ (Pre-lab preparation)

1. ตรวจสอบ สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือที่จำเป็นสำหรับการทดลอง
2. เตรียมสารละลาย เช่น สารละลายบัฟเฟอร์ สารละลายโปรตีน และสารอื่นๆ ที่ใช้ในการทดลอง
3. ตรวจสอบความพร้อมของเครื่องมือ เช่น pH meter, spectrophotometer, centrifuge
4. ตรวจสอบอุปกรณ์นิรภัย เช่น ถุงมือ แวนตานิรภัย ถังดับเพลิง และอุปกรณ์ปฐมพยาบาล

4.2 การจัดการระหว่างปฏิบัติการ (During lab session)

1. ให้คำแนะนำ เกี่ยวกับการใช้เครื่องมือและสารเคมีอย่างถูกต้อง
2. ตรวจสอบความปลอดภัย ของนักศึกษา เช่น การสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (PPE) และการจัดการสารเคมี
3. เผื่อระวังอุบัติเหตุ และให้ความช่วยเหลือเบื้องต้นกรณีเกิดเหตุฉุกเฉิน

4.3 การจัดการหลังปฏิบัติการ (Post-lab management)

1. ทำความสะอาดและจัดเก็บ อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีให้ถูกต้องตามมาตรฐาน
2. บันทึกปริมาณการใช้สารเคมีและอุปกรณ์ เพื่อประเมินสต็อกและวางแผนการสั่งซื้อ
3. จัดการของเสีย ทางชีวเคมีและสารเคมีตามกฎหมายและข้อกำหนดด้านสิ่งแวดล้อม

5. นิยามคำศัพท์เฉพาะ/คำจำกัดความ

ภาควิชา หมายความว่า ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

คณะวิทยาศาสตร์ หมายความว่า คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มหาวิทยาลัย หมายความว่า มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

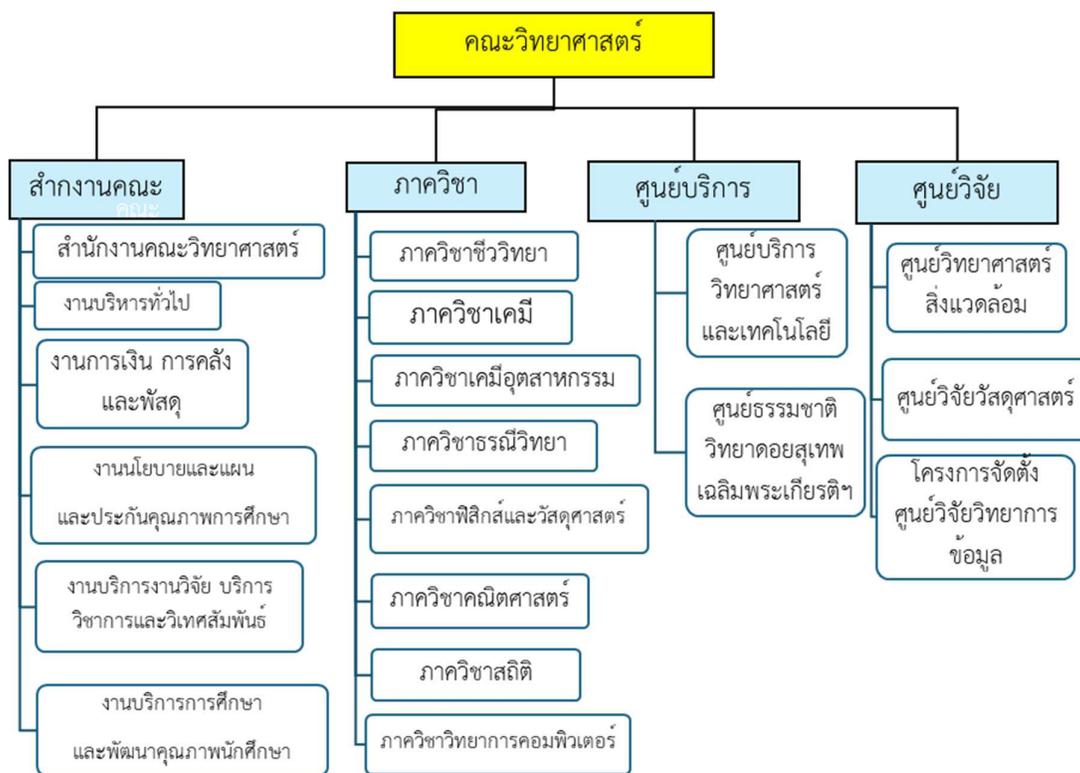
เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ หมายความว่า เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชีวเคมีและชีวเคมีนวัตกรรม

บทที่ 2

โครงสร้างองค์กรและหน้าที่ความรับผิดชอบ

1. โครงสร้างและพันธกิจหลักคณะวิทยาศาสตร์

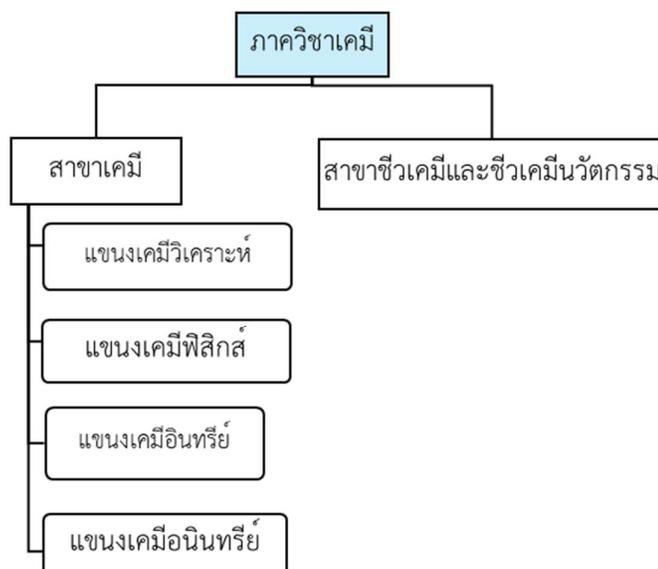
คณะวิทยาศาสตร์ยึดมั่นในปณิธานของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่มุ่งเป็นสถาบันการศึกษาชั้นนำของภูมิภาค โดยผสมผสานความเป็นเลิศทางวิชาการกับความรับผิดชอบต่อสังคม โดยให้ความสำคัญกับการเป็นศูนย์กลางความรู้และนวัตกรรม การพัฒนาท้องถิ่นและประเทศอย่างยั่งยืน และการส่งเสริมเสรีภาพทางวิชาการบนพื้นฐานของความจริงและจริยธรรม คณะวิทยาศาสตร์เป็นหน่วยงานที่มีหน้าที่รับผิดชอบใน 3 พันธกิจหลัก ได้แก่ ผลิตบัณฑิตที่มีคุณภาพ มีการวิจัยระดับสากล และมีบริการวิชาการเพื่อสังคม โดยมีโครงสร้างการบริหารองค์กรดังนี้



รูปภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างองค์กร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2. โครงสร้างและภารกิจหลักภาควิชาเคมี

ภาควิชาเคมี มุ่งเน้นการจัดการเรียนการสอนทั้งในระดับปริญญาตรีและบัณฑิตศึกษาด้านเคมีและชีวเคมีเทคโนโลยี ที่เพียบพร้อมไปด้วยเครื่องมือวิจัยชั้นนำและคณาจารย์ผู้เชี่ยวชาญที่ทำงานวิจัยในหลากหลายสาขา ทั้งเคมี ชีวเคมีและสหสาขาวิชา นอกจากนี้ภาควิชาเคมีมีวิสัยทัศน์สู่ความเป็นเลิศและการยอมรับในระดับชาติและระดับนานาชาติ ทั้งด้านการเรียนการสอนและการวิจัยทางเคมี ชีวเคมีและชีวเคมีเทคโนโลยี พร้อมทั้งการบริการวิชาการเพื่อสังคมตามปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียง ซึ่งเป็นไปตามภารกิจหลัก 3 ด้าน ได้แก่ การจัดการเรียนการสอน การวิจัย และการบริการวิชาการแก่ชุมชน ที่สอดคล้องกับพันธกิจหลักของคณะวิทยาศาสตร์ ซึ่งภาควิชาเคมีประกอบไปด้วยสาขาวิชาต่างๆดังนี้



รูปภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างสาขาวิชาต่างๆในภาควิชาเคมี

3. บทบาทและหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ ระดับปฏิบัติการ

ผู้ดำรงตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ ระดับปฏิบัติการ ได้ปฏิบัติงานตามมาตรฐานของตำแหน่งอย่างเหมาะสม โดยมีขอบเขตหน้าที่ความรับผิดชอบตามที่ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ได้มอบหมาย ซึ่งครอบคลุมการปฏิบัติงานด้านวิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ รวมถึงการสนับสนุนการเรียนการสอน การดูแลเครื่องมือวิทยาศาสตร์ และการจัดเตรียมสารเคมีและอุปกรณ์ต่าง ๆ เพื่อให้การดำเนินงานในภาควิชาเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและสอดคล้องกับมาตรฐานที่กำหนดไว้ ดังนี้

3.1 ภาระงานหลัก

1. การจัดการเรียนการสอนในห้องปฏิบัติการ

จัดเตรียมและสนับสนุนการทดลองในรายวิชาต่างๆ ได้แก่:

- กระบวนวิชา 211303 (Biochemical Methods)
- กระบวนวิชา 211317 (Biochemistry Laboratory 1)
- กระบวนวิชา 211343 (Instruments for Upstream and Downstream Processing in Biochemical Production)
- กระบวนวิชา 211447 (Microbial and Enzymatic Biotransformation)

2. การควบคุมและบำรุงรักษาเครื่องมือวิทยาศาสตร์ เป็นงานที่ต้องดูแล ให้บริการ และให้คำแนะนำเบื้องต้นเกี่ยวกับการใช้เครื่องมือหลักในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่ง pH meter, UV-VIS spectrophotometer, Centrifugation, Shaking incubator, Autoclave, Microscope, Gas chromatography, High Performance Liquid Chromatography

3. การจัดหาวัสดุและสารเคมี และสื่อการเรียนที่จำเป็นสำหรับการทดลองแต่ละรายวิชา

4. การบริหารงานเอกสาร เตรียมและจัดทำเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการปฏิบัติการ เช่น ใบคำขอลาปฏิบัติการ ใบรายชื่อนักศึกษา ใบสั่งซื้อ และรายงานการใช้เครื่องมือ

3.2 ภาระงานที่ได้รับมอบหมายอื่นๆ

1. เตรียมอุปกรณ์และสารเคมีสำหรับนักเรียนเคมีโอลิมปิก ตามได้รับมอบหมาย

2. เตรียมอุปกรณ์และสารเคมีสำหรับอาจารย์ และนักศึกษาในการทำวิจัย

3. งานที่ได้รับแต่งตั้งเป็นกรรมการ คณะทำงานต่างๆ ตามได้รับมอบหมาย

3.3 งานเพื่อการพัฒนา

1. ผู้ช่วยวิจัยร่วมกับ อาจารย์ ดร.ไพโรจน์ กิจนะพานิชย์ ทำวิจัย เรื่อง โครงการวิจัยการทำลำไยอบแห้งโดยวิธี Freeze-drying ปี พ.ศ. 2547

2. ทำวิจัย เรื่อง การบำบัดของเสียในห้องปฏิบัติการชีวเคมี ปี พ.ศ. 2550

บทที่ 3

หลักเกณฑ์ วิธีการปฏิบัติงาน

คู่มือการปฏิบัติงานทางชีวเคมีเล่มนี้ จัดทำขึ้นเพื่อกำหนดแนวทางด้านจริยธรรมและมาตรฐานการปฏิบัติงานของผู้ปฏิบัติงานในมหาวิทยาลัย ตลอดจนแนวปฏิบัติที่จำเป็นในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้การทำงานเป็นไปด้วยความปลอดภัย โปร่งใส และมีประสิทธิภาพ โดยมีเนื้อหาครอบคลุมหลักจริยธรรมของผู้ปฏิบัติงาน การใช้ห้องปฏิบัติการ การจัดการสารเคมี การรับมือเหตุฉุกเฉิน ตลอดจนบทบาทหน้าที่ของนักวิทยาศาสตร์ และบุคลากรที่เกี่ยวข้อง ทั้งนี้เพื่อส่งเสริมคุณธรรม ความรับผิดชอบ ความเป็นมืออาชีพ และการทำงานอย่างมีมาตรฐานในทุกมิติของการปฏิบัติงานภายในมหาวิทยาลัย มีรายละเอียดดังนี้

1. จริยธรรมของผู้ปฏิบัติงาน
2. ระเบียบและข้อปฏิบัติที่เกี่ยวข้อง

1. จริยธรรมของผู้ปฏิบัติงาน

จริยธรรมของผู้ปฏิบัติงานในมหาวิทยาลัยเป็นกรอบแนวทางสำคัญในการประพฤติปฏิบัติ ทั้งในด้านบุคลิกภาพส่วนบุคคล การทำงานร่วมกับผู้อื่น การรับใช้สังคม และการอุทิศตนเพื่อประโยชน์ส่วนรวม มาตรฐานจริยธรรมเหล่านี้ไม่เพียงสะท้อนภาพลักษณ์และคุณค่าของมหาวิทยาลัย แต่ยังเป็นรากฐานในการสร้างความเชื่อมั่นจากผู้เรียน ผู้รับบริการ และประชาชน ตลอดจนช่วยให้ผู้ปฏิบัติงานทุกคนสามารถร่วมกันพัฒนามหาวิทยาลัยให้ก้าวหน้าอย่างยั่งยืน

เพื่อให้การปฏิบัติหน้าที่เป็นไปด้วยความโปร่งใส มีประสิทธิภาพ และตั้งอยู่บนหลักคุณธรรม มาตรฐานจริยธรรมของผู้ปฏิบัติงานในมหาวิทยาลัยนั้นมี 4 ด้านสำคัญ ได้แก่

1. จริยธรรมต่อตนเองและวิชาชีพ
2. จริยธรรมต่อหน่วยงาน
3. จริยธรรมต่อผู้บังคับบัญชา ผู้ร่วมงาน และผู้ร่วมงาน
4. จริยธรรมต่อผู้เรียน ผู้รับบริการ ประชาชน และสังคม

ทั้งสี่ด้านล้วนเป็นแนวปฏิบัติที่ผู้ปฏิบัติงานควรยึดถืออย่างเคร่งครัด เพื่อเสริมสร้างคุณธรรม ความน่าเชื่อถือ และความเป็นมืออาชีพในทุกมิติของการทำงาน ดังนี้

1.1 จริยธรรมต่อตนเองและวิชาชีพ

ผู้ปฏิบัติงานต้องประพฤติตนและทำงานบนพื้นฐานของคุณธรรม ความดีงาม และมาตรฐานวิชาชีพ ซึ่งมีสาระสำคัญต่างๆ ดังนี้

1. มีศีลธรรม ประพฤติตนเหมาะสมกับตำแหน่งและบทบาท
2. ปฏิบัติหน้าที่ด้วยความถูกต้องตามกฎหมาย ซื่อสัตย์ สุจริต โปร่งใส ตรวจสอบได้
3. ไม่แสวงหาประโยชน์โดยมิชอบ ไม่สร้างความขัดแย้งผลประโยชน์ระหว่างตนกับส่วนรวม
4. มีจิตสำนึกต่อชุมชน สังคม สิ่งแวดล้อม ยึดประโยชน์ประเทศชาติเป็นสำคัญ
5. อุทิศเวลา ความรู้ และกำลังกายเพื่อกิจกรรมที่เป็นประโยชน์ต่อผู้อื่นโดยไม่หวังผลตอบแทน
6. หากสังกัดวิชาชีพใด ต้องยึดหลักจรรยาบรรณวิชาชีพนั้นอย่างเคร่งครัด
7. กล้าตัดสินใจทำสิ่งที่ถูกต้อง ปราศจากอคติ กล้าท้วงติงความไม่ถูกต้อง
8. พัฒนาตนเองอยู่เสมอ เพิ่มพูนความรู้และทักษะในงาน
9. ภาคภูมิใจและยึดมั่นในสถาบันหลักของชาติ ได้แก่ ชาติ ศาสนา พระมหากษัตริย์ และการปกครองตามรัฐธรรมนูญ รวมถึงปฏิบัติตามกฎหมายและระเบียบของมหาวิทยาลัย

1.2 จริยธรรมต่อหน่วยงาน

ผู้ปฏิบัติงานต้องยึดมั่นในภารกิจของมหาวิทยาลัย และปฏิบัติงานอย่างเป็นมืออาชีพเพื่อประโยชน์ขององค์กรซึ่งสาระสำคัญดังนี้

1. ยึดมั่นในปณิธานและเจตนารมณ์ของมหาวิทยาลัย
2. ทำงานอย่างสุจริต เสมอภาค ปราศจากอคติและผลประโยชน์ทับซ้อน
3. ปฏิบัติหน้าที่ด้วยความทุ่มเท อุตสาหะ รอบคอบ ถูกต้อง รวดเร็ว และคำนึงถึงความคุ้มค่าของทรัพยากรของมหาวิทยาลัย
4. สนับสนุนการผลิตบัณฑิต การวิจัย การบริการวิชาการ และการพัฒนานวัตกรรม
5. ส่งเสริมการเข้าถึงการศึกษาอย่างทั่วถึงและเท่าเทียม
6. นำเทคโนโลยีและนวัตกรรมสมัยใหม่มาใช้เพื่อพัฒนางานให้ก้าวทันการเปลี่ยนแปลง
7. ตรงต่อเวลาและใช้เวลาราชการให้เกิดประโยชน์สูงสุด
8. ดูแลรักษาทรัพย์สินของมหาวิทยาลัยอย่างประหยัด คุ้มค่า เสมือนเป็นทรัพย์สินของตนเอง

1.3 จริยธรรมต่อผู้บังคับบัญชา ผู้ใต้บังคับบัญชา และผู้ร่วมงาน

ผู้ปฏิบัติงานต้องสร้างการทำงานร่วมกันอย่างมีประสิทธิภาพ บนพื้นฐานของความเคารพและความสามัคคี ดังนี้

1. รับผิดชอบงาน พร้อมให้ความร่วมมือในหน่วยงาน ช่วยกันคิด แก้ปัญหา และเสนอแนะแนวทางที่เป็นประโยชน์
2. ผู้บังคับบัญชาต้องดูแลเอาใจใส่ผู้ใต้บังคับบัญชา ให้ขวัญกำลังใจ รับฟังความคิดเห็น และใช้อำนาจด้วยเหตุผลและความเป็นธรรม
3. ร่วมแรงร่วมใจ เกื้อกูลกันในทางที่ชอบ ส่งเสริมความสามัคคีในหมู่คณะ
4. ปฏิบัติต่อผู้ร่วมงานด้วยความสุภาพ มีน้ำใจ และมีมนุษยสัมพันธ์ที่ดี

5. ช่วยกันส่งเสริมให้ผู้ร่วมงานยึดจริยธรรมของผู้ปฏิบัติงานในมหาวิทยาลัยอย่างเคร่งครัด

1.4 จริยธรรมต่อผู้เรียน ผู้รับบริการ ประชาชน และสังคม

ผู้ปฏิบัติงานต้องให้บริการด้วยความเป็นธรรม เสมอภาค และเคารพศักดิ์ศรีความเป็นมนุษย์ของทุกคน ดังนี้

1. ให้บริการเต็มความสามารถ รวดเร็ว สุภาพ เอื้อเฟื้อ และไม่เลือกปฏิบัติ
2. ไม่ใช้ความรู้สึกส่วนตัว ความแตกต่างด้านเชื้อชาติ ศาสนา เพศ อายุ สภาพทางกาย ฐานะ หรือความคิดเห็นที่ไม่ขัดต่อกฎหมายมาเป็นเหตุในการทำให้เกิดความไม่เป็นธรรม
3. ห้ามเหยียดหยาม ล้อเลียน ประจาน หรือแสดงกิริยาดูหมิ่นทั้งทางตรงหรือทางอ้อม
4. รักษาความเป็นกลางทางการเมือง
5. หากไม่สามารถดำเนินการเรื่องใดได้ ต้องชี้แจงเหตุผลหรือแนะนำหน่วยงานที่มีอำนาจเกี่ยวข้อง
6. ให้ข้อมูลผู้เรียนและประชาชนอย่างถูกต้อง ครบถ้วน ไม่บิดเบือน
7. เป็นแบบอย่างที่ดี รักษาภาพลักษณ์ของมหาวิทยาลัย ไม่ทำให้เสื่อมเสียชื่อเสียง
8. พัฒนาความรู้ความสามารถทางวิชาการและวิชาชีพอยู่เสมอ
9. ห้ามรับทรัพย์สินหรือประโยชน์เกินสมควร หากได้รับโดยไม่ตั้งใจต้องรายงานผู้บังคับบัญชา
10. รักษาความลับของผู้เรียนและผู้รับบริการ มีความสัมพันธ์แบบกัลยาณมิตร ไม่คุกคาม ล่วงเกิน หรือก่อความเดือดร้อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเรื่องที่เชื่อมโยงกับความต้องการทางเพศ

2.ระเบียบและข้อปฏิบัติที่เกี่ยวข้อง

เพื่อให้การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการชีวเคมีเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย ผู้ปฏิบัติงานต้องทำงานภายใต้ระเบียบและข้อปฏิบัติที่ต่างๆ เพื่อสร้างความตระหนักและเตรียมพร้อมเสมอกับสถานการณ์ที่ไม่คาดคิดได้อย่างถูกต้องและทันท่วงที ดังนี้

1. ข้อปฏิบัติทั่วไปในการใช้ห้องปฏิบัติการ
2. การตอบโต้เหตุฉุกเฉินในห้องปฏิบัติการ
3. ระบบสัญลักษณ์แสดงอันตรายของสารเคมี

2.1 ข้อปฏิบัติทั่วไปในการใช้ห้องปฏิบัติการ

ข้อปฏิบัติในการใช้ห้องปฏิบัติการชีวเคมีถูกกำหนดขึ้นเพื่อให้การทำงานเป็นไปอย่างปลอดภัย มีประสิทธิภาพ และลดความเสี่ยงจากสารเคมีและอุปกรณ์ที่อาจเป็นอันตราย ผู้ใช้ห้องปฏิบัติการทุกคนจำเป็นต้องปฏิบัติตามกฎระเบียบอย่างเคร่งครัดเพื่อป้องกันอุบัติเหตุและรักษาความเป็นระเบียบของพื้นที่ทำงาน แนวทางเหล่านี้ยังช่วยส่งเสริมพฤติกรรมที่เหมาะสมในห้องแล็บ รวมถึงการใช้เครื่องมือและสารเคมี

อย่างถูกต้อง การจัดเก็บที่เป็นมาตรฐาน และการรับมือเหตุฉุกเฉินอย่างถูกวิธี ทั้งหมดนี้เพื่อให้ห้องปฏิบัติการมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้งานและสอดคล้องกับมาตรฐานทางวิชาการของมหาวิทยาลัย ดังนี้

1. ห้ามรับประทานอาหารและเครื่องดื่มทุกชนิดในห้องปฏิบัติการอย่างเด็ดขาด และไม่ควรเก็บอาหารหรือภาชนะส่วนตัวไว้ในตู้เก็บสารเคมี
2. ห้ามทำงานในห้องปฏิบัติการตามลำพัง ควรทำงานเป็นกลุ่มและมีผู้ควบคุมที่มีประสบการณ์อยู่ตลอดเวลา และควรแจ้งอาจารย์ผู้ควบคุมทราบทุกครั้งเมื่อจะเข้ามาทำงานนอกเวลา
3. ต้องสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันความปลอดภัยส่วนบุคคล (PPE) ให้ครบถ้วนเสมอ เช่น เสื้อคลุมปฏิบัติการแว่นตานิรภัย และรองเท้านิรภัยตลอดเวลา ที่สำคัญคือห้ามสวมคอนแทคเลนส์เพราะอาจดูดซับสารเคมีไว้บนดวงตา
4. ห้ามทดลองด้วยความประมาท หรือทำการทดลองที่ไม่ได้ระบุไว้ในคู่มือโดยไม่ได้รับอนุญาต ควรอ่านและทำความเข้าใจขั้นตอนการทดลองล่วงหน้า และปฏิบัติตามคำแนะนำอย่างเคร่งครัด
5. ต้องรู้ตำแหน่งและวิธีการใช้อุปกรณ์ความปลอดภัยพื้นฐาน เช่น ตำแหน่งที่ตั้งของฝักบัวอาบน้ำ ฉุกเฉินอ่างล้างตา ผ้าห่มดับเพลิงและถังดับเพลิง และควรมีการฝึกซ้อมการใช้เครื่องมือเหล่านี้ให้คล่องแคล่ว
6. ห้ามสูดดมหรือทดลองชิมสารเคมีด้วยตนเอง โดยเด็ดขาด
7. ต้องทราบวิธีการจัดการของเสีย โดยต้องทำการแยกทิ้งขยะและสารเคมีตามประเภท (เช่น ของเสียอันตราย, แก้วแตก, สารติดไฟ) ลงในภาชนะที่กำหนดไว้โดยเฉพาะ
8. ห้าม pipette ด้วยปากโดยตรง เพื่อป้องกันสารเคมีเข้าปากต้องใช้ลูกยางสำหรับดูดสารที่เท่านั้น
9. ต้องจัดพื้นที่ทำงานให้เป็นระเบียบ ทำความสะอาดพื้นที่ทำงานหลังการทดลองเสร็จสิ้นทุกครั้ง และปิดขวดสารเคมีทุกครั้งหลังใช้
10. ต้องรู้ขั้นตอนการปฏิบัติตัวเมื่อเกิดเหตุฉุกเฉิน เช่น สารเคมีหก เกิดไฟไหม้ หรือได้รับบาดเจ็บ และรู้เส้นทางอพยพหนีไฟ รีบแจ้งอาจารย์ผู้ควบคุมทันทีที่เกิดเหตุการณ์ไม่ปกติ

2.2 การตอบโต้เหตุฉุกเฉินในห้องปฏิบัติการ

เหตุฉุกเฉินอาจเกิดขึ้นได้ภายในห้องปฏิบัติการ ซึ่งผู้ปฏิบัติงานควรมีความรู้ ความพร้อม และแนวทางป้องกันรับมืออย่างเหมาะสม ดังต่อไปนี้

1. ไฟไหม้จากสารเคมีหรืออุปกรณ์ไฟฟ้า

สาเหตุ: สารไวไฟลุกติดไฟจากความร้อนหรือประกายไฟ ไฟฟ้าลัดวงจร อุปกรณ์ไฟฟ้าทำงานหนักเกินไป กำลังจนเกิดความร้อนสะสม

การรับมือเหตุฉุกเฉิน

1. ใช้เครื่องดับเพลิงให้ถูกประเภท เช่น Class B สำหรับสารเคมีติดไฟ และ Class C สำหรับไฟฟ้า

2. ตัดแหล่งเชื้อเพลิงหรือสวิตช์ไฟ หากสามารถทำได้โดยไม่เสี่ยงอันตราย
3. อพยพออกจากบริเวณพื้นที่ พร้อมแจ้งเจ้าหน้าที่ความปลอดภัยหรือหน่วยดับเพลิง

2. การรั่วไหลหรือหกของสารเคมีอันตราย

สาเหตุ: ภาชนะแตกหรือชำรุด ความผิดพลาดระหว่างการขนย้าย การปิดฝาภาชนะไม่สนิท

การรับมือเหตุฉุกเฉิน

1. ประเมินความเสี่ยงของสารเคมีก่อนเข้าใกล้ เช่น ความไวไฟ ความเป็นพิษ หรือความเสี่ยงต่อการระเบิด
2. ใช้อุปกรณ์ดูดซับหรือชุด Spill Kit ที่เหมาะสมกับประเภทของสารเคมี
3. ปิดกั้นพื้นที่และแจ้งอาจารย์ผู้ควบคุมหรือเจ้าหน้าที่พื้นที่

3. อุบัติเหตุจากอุปกรณ์หรือเครื่องจักร

สาเหตุ: เครื่องหมุนเหวี่ยงทำงานผิดปกติ เต้าไมโครเวฟเกิดการลัดวงจร อุปกรณ์แก้วแตกขณะ

ปฏิบัติงาน

การรับมือเหตุฉุกเฉิน

1. ปิดสวิตช์หรือตัดกระแสไฟฟ้าของอุปกรณ์ทันที
2. ปฐมพยาบาลเบื้องต้นตามลักษณะการบาดเจ็บ เช่น แผลบาด แผลไฟไหม้ หรือบาดเจ็บจากแรงกระแทก
3. หยุดใช้อุปกรณ์ที่มีปัญหา และรายงานให้เจ้าหน้าที่ซ่อมบำรุงดำเนินการตรวจสอบ

4. ไฟฟ้าดับหรือไฟฟ้าตก

สาเหตุ: ระบบไฟฟ้าขัดข้อง ไฟลัดวงจร เหตุขัดข้องจากระบบไฟฟ้าภายนอก

การรับมือเหตุฉุกเฉิน

1. ปิดอุปกรณ์และเครื่องมือทั้งหมดเพื่อป้องกันความเสียหายเมื่อไฟฟ้ากลับมา
2. ใช้ไฟฉายหรือแหล่งแสงสำรอง ห้ามใช้เปลวไฟโดยเด็ดขาด
3. ตรวจสอบตู้เย็นหรืออุปกรณ์ที่ต้องทำงานต่อเนื่อง และรายงานหากพบปัญหา

5. การสูดดมแก๊สหรือไอระเหยอันตราย

สาเหตุ: ทำงานกับสารระเหยโดยไม่ใช้ตู้ดูดควัน การรั่วของถังแก๊สหรือท่อทางเดินแก๊ส

การรับมือเหตุฉุกเฉิน

1. ออกจากพื้นที่ทันทีและไปยังบริเวณที่มีอากาศถ่ายเท
2. แจ้งผู้ควบคุมและเจ้าหน้าที่ความปลอดภัยเพื่อตรวจสอบแหล่งรั่ว
3. ไม่กลับเข้าไปในพื้นที่จนกว่าจะได้รับการยืนยันว่าไม่มีอันตราย

6. การระเบิดหรือแรงดันเกินกำหนด

สาเหตุ: ปฏิกิริยาของสารที่เกิดขึ้นอย่างรุนแรง ภาชนะปิดสนิทได้รับความร้อนเกิน การผสมสารผิดสูตรหรือผิดอัตราส่วน

การรับมือเหตุฉุกเฉิน

1. ใช้สิ่งกำบังหรือหมอบหลบใต้โต๊ะทันทีเมื่อเกิดเสียงผิดปกติหรือมีสัญญาณอันตราย
2. อพยพออกจากพื้นที่หลังแรงระเบิดสงบลง
3. ช่วยเหลือผู้บาดเจ็บและแจ้งเจ้าหน้าที่เพื่อประเมินความเสียหาย

7. สภาพแวดล้อมไม่ปลอดภัย

สาเหตุ: น้ำท่วมขังภายในห้อง

การรับมือเหตุฉุกเฉิน

1. ปิดระบบไฟฟ้าหลักหากสามารถทำได้อย่างปลอดภัย
2. อพยพไปยังจุดรวมพลตามแผนฉุกเฉิน
3. แจ้งเจ้าหน้าที่กู้ภัยหรือช่างเทคนิคเข้าดำเนินการแก้ไข

สรุปแนวทางปฏิบัติเมื่อเกิดเหตุฉุกเฉินในห้องปฏิบัติการ

1. ตั้งสติ ประเมินสถานการณ์ และพิจารณาความปลอดภัยก่อนให้ความช่วยเหลือ
2. แจ้งผู้ควบคุมและติดต่อหน่วยกู้ภัยทันที (โทร 1669 หรือ 191)
3. อพยพออกจากพื้นที่อันตรายโดยใช้เส้นทางหนีไฟที่กำหนด
4. ปิดกั้นพื้นที่เพื่อป้องกันผู้อื่นเข้าใกล้บริเวณเสี่ยง
5. ให้ข้อมูลสำคัญแก่เจ้าหน้าที่ เช่น ชนิดของสารเคมีที่เกี่ยวข้องและความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้น
6. การฝึกซ้อมแผนฉุกเฉินเป็นประจำ และการรู้ตำแหน่งอุปกรณ์ความปลอดภัย เช่น ถังดับเพลิง ฝักบัวล้างสารเคมี (Emergency Shower) และตู้ล้างตา (Eye Wash) จะช่วยลดความเสี่ยงและเพิ่มความมั่นใจในการรับมือเมื่อเหตุการณ์ฉุกเฉินเกิดขึ้นจริงในห้องปฏิบัติการ

2.3 ระบบสัญลักษณ์แสดงอันตรายของสารเคมี

ระบบสัญลักษณ์แสดงอันตรายที่รู้จักและนิยมใช้มี 4 ระบบ ได้แก่ ระบบ GHS, ระบบ NFPA, ระบบ EEC และระบบ UN ซึ่งระบบสัญลักษณ์เหล่านี้ถูกออกแบบมาเพื่อสื่อถึงอันตรายของสารเคมีได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ แม้จะมีจุดมุ่งหมายเดียวกัน แต่แต่ละระบบมีบริบทและการใช้งานที่แตกต่างกัน ดังนี้

2.3.1 ระบบ GHS (Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals)

คือ ระบบสัญลักษณ์ระดับสากลที่พัฒนาขึ้นโดยสหประชาชาติ เพื่อสร้าง "ภาษาเดียวกัน" ในการจำแนกและติดฉลากสารเคมีทั่วโลก ปัจจุบันระบบนี้ถูกนำไปใช้ในหลายประเทศ รวมถึงประเทศไทย (ในรูปของ TISI 1181-2558) ทำให้การสื่อสารด้านสารเคมีเป็นมาตรฐานเดียวกัน โดยที่ระบบนี้มีจุดเด่นที่การใช้พิคโตแกรม (pictograms) เป็นรูปสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูนสีแดง ขาว และดำ บนพื้นขาว ดังตัวอย่างต่อไปนี้

ตารางที่ 1 แสดงสัญลักษณ์ในระบบ GHS

สัญลักษณ์	ความหมาย
 (GHS01: Explosive)	สารระเบิด แตกสลายได้ด้วยตัวเอง หรือสารประกอบออร์แกนิกเปอร์ออกไซด์ เช่น azidoazide azide, TNT
 (GHS02: Flammable)	สารไวไฟ สารที่ลุกติดไฟได้เอง หรือสารที่ติดไฟได้ในรูปของแก๊ส เช่น acetone, methanol
 (GHS03: Oxidizing)	สารออกซิไดซ์ ที่อาจทำให้เกิดไฟ เช่น hydrogen peroxide
 (GHS04: Compressed gas)	แก๊สภายใต้ความดัน ซึ่งอาจจะระเบิดได้หากถูกความร้อนหรือเสียหาย เช่น liquid nitrogen
 (GHS05: Corrosive)	การทำลายเนื้อเยื่อผิวหนังและดวงตา และ/หรือ การกัดกร่อนโลหะ เช่น nitric acid, sodium hydroxide

สัญลักษณ์	ความหมาย
 (GHS06: Skull and crossbones)	ความเป็นพิษเฉียบพลัน (Acute Toxicity) สารที่อาจเป็นอันตรายถึงชีวิตหากกลืนกิน หรือดูดซึมผ่านผิวหนัง เช่น manganese heptoxide
 (GHS07: Health hazard/Hazardous to ozone layer)	ความเป็นพิษระดับน้อย การระคายเคืองผิวหนัง ตา สารก่อภูมิแพ้
 (GHS08: Serious health hazard)	อันตรายต่อสุขภาพในระยะยาว เช่น มะเร็ง, การทำลายระบบสืบพันธุ์, การกลายพันธุ์ เช่น chromium, cadmium
 (GHS09: Hazardous to the environment)	ความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม สัตว์น้ำและพืชน้ำ

2.3.2 ระบบ NFPA 704 (National Fire Protection Association)

ระบบ NFPA 704 มีชื่อเรียกว่าระบบ "เพชรแห่งไฟ" (Fire diamond) ที่พัฒนาขึ้นในสหรัฐอเมริกา เพื่อการตอบสนองเหตุฉุกเฉินโดยเจ้าหน้าที่ดับเพลิง โดยจะติดอยู่บริเวณภายนอกตู้เก็บสารเคมีหรือทางเข้าห้องปฏิบัติการ เพื่อบอกข้อมูลเมื่อเกิดเหตุเพลิงไหม้ มีรูปแบบเป็นรูปสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน 4 สี แต่ละสีแทนหมวดหมู่ของอันตราย พร้อมตัวเลข 0-4 (0=อันตรายน้อย, 4=อันตรายรุนแรงที่สุด) ดังนี้

- สีน้ำเงิน : ระบุผลกระทบต่อสุขภาพ โดยตัวเลข 0-4 จะบอกระดับความรุนแรง ดังนี้
 - 0 หมายถึง ไม่มีอันตราย (No hazard)
 - 1 หมายถึง ทำให้เกิดการระคายเคืองเล็กน้อย
 - 2 หมายถึง ทำให้เกิดบาดเจ็บปานกลาง ต้องหลีกเลี่ยงการสัมผัส
 - 3 หมายถึง ทำให้บาดเจ็บรุนแรงหรือถึงตาย หากสัมผัสโดยไม่มีอุปกรณ์ป้องกัน
 - 4 หมายถึง สารพิษมาก สุดคมหรือสัมผัสเพียงเล็กน้อยก็อันตรายถึงชีวิต
- สีแดง : แสดงถึงความไวไฟของสาร โดยตัวเลข 0-4 จะบ่งบอกช่วงจุดวาบไฟ ดังนี้
 - 0 หมายถึง ไม่ติดไฟภายใต้สภาพที่พบในห้องแล็บทั่วไป
 - 1 หมายถึง ต้องให้ความร้อนมากกว่าจะติดไฟ
 - 2 หมายถึง ต้องทำให้อุ่นก่อนถึงจะติดไฟ เช่น จุดวาบไฟ (Flash point) > 37.8°C
 - 3 หมายถึง ลุกติดไฟได้ง่ายมากเมื่อได้รับประกายไฟ
 - 4 หมายถึง จุดติดไฟได้ง่ายมาก อาจติดไฟเองที่อุณหภูมิห้อง เช่น ก๊าซไวไฟสูง

3. สีเหลือง : ระบุความไวในการเกิดปฏิกิริยาที่อาจทำให้เกิดการระเบิดหรือปล่อยก๊าซพิษ โดยตัวเลข 0-4 จะบ่งบอกช่วงความไวในการเกิดปฏิกิริยา ดังนี้

- 0 หมายถึง ไม่ทำปฏิกิริยาหรือสลายตัวได้อย่างปลอดภัย
- 1 หมายถึง ตอบสนองกับสารอื่นได้บ้างแต่ไม่รุนแรง
- 2 หมายถึง อาจเกิดปฏิกิริยาอย่างรุนแรงเมื่อผสมสารบางชนิดหรือให้ความร้อนสูง
- 3 หมายถึง อาจระเบิดเมื่อได้รับแรงกระแทกหรือให้ความร้อน
- 4 หมายถึง ระเบิดได้เองภายใต้สภาวะปกติ หรือไวต่อแรงกระแทก/ความร้อนอย่างมาก

4. สีขาว : แสดงสัญลักษณ์สำหรับอันตรายเฉพาะ ซึ่งแบ่งออกเป็น รหัสเฉพาะตามมาตรฐาน NFPA 704 (Standard codes) และรหัสนอกมาตรฐาน (Non-standard codes) มีรายละเอียดดังนี้

4.1 รหัสเฉพาะตามมาตรฐาน NFPA 704

รหัสเหล่านี้เป็นรหัสมาตรฐานที่กำหนดไว้ในระบบ NFPA 704 โดยตรง ดังนี้

รหัส	คำอธิบาย	รายละเอียดและตัวอย่างเพิ่มเติม
OX	สารออกซิไดซ์ (Oxidizer)	สารที่สามารถให้ออกซิเจน ทำให้ไฟลุกไหม้รุนแรงขึ้นหรือเกิดระเบิดได้แม้ไม่มีอากาศ ตัวอย่าง: potassium permanganate, sodium nitrate
W	ทำปฏิกิริยารุนแรงกับน้ำ (Reacts with water)	สารที่ทำปฏิกิริยารุนแรงกับน้ำ ระเบิด เกิดก๊าซไวไฟหรือเกิดความร้อนออกมาอย่างรวดเร็ว ตัวอย่าง: sodium metal
SA	ก๊าซพิษที่ทำให้ร่างกายขาดออกซิเจน (Simple asphyxiant Gas)	ก๊าซเฉื่อยที่สามารถแทนที่ออกซิเจนในอากาศ ทำให้ระดับออกซิเจนลดลงจนเป็นอันตรายถึงชีวิต ตัวอย่าง: nitrogen (N ₂), argon (Ar), helium (He)

4.2. รหัสนอกมาตรฐาน

รหัสเหล่านี้ไม่ใช่ส่วนหนึ่งของมาตรฐาน NFPA 704 อย่างเป็นทางการ แต่เป็นรหัสที่นิยมใช้กันในทางปฏิบัติเพื่อสื่อสารอันตรายได้ชัดเจนยิ่งขึ้น การใช้รหัสเหล่านี้ขึ้นอยู่กับนโยบายของแต่ละหน่วยงาน

รหัส	คำอธิบาย	รายละเอียดและตัวอย่างเพิ่มเติม
COR หรือ ACID/ALK	สารกัดกร่อน (Corrosive)	สารที่มีความเป็นกรดหรือเบสสูง ซึ่งสามารถทำลายเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต และทำลายโลหะได้ ACID: กรด เช่น sulfuric acid, hydrochloric acid

รหัส	คำอธิบาย	รายละเอียดและตัวอย่างเพิ่มเติม
		ALK: เบส หรือสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นด่าง เช่น sodium hydroxide, potassium hydroxide
BIO	เป็นอันตรายทางชีวภาพ (Biological Hazard)	สิ่งมีชีวิตหรือสารจากสิ่งมีชีวิตที่อาจก่อให้เกิดโรคต่อมนุษย์ สัตว์ หรือพืช ตัวอย่าง: แบคทีเรีย ไวรัส สารพิษจากจุลินทรีย์
POI	สารพิษ (Poison)	ใช้เพื่อเน้นย้ำว่าสารเคมีนั้นมีพิษสูง แม้จะมีการระบุระดับอันตรายด้านสุขภาพ (สีน้ำเงิน) ไว้แล้ว ตัวอย่าง: potassium cyanide, arsenic
RA/RAD	กัมมันตรังสี (Radioactive)	สารที่ปล่อยรังสีซึ่งเป็นอันตรายต่อเซลล์ในร่างกาย ตัวอย่าง: uranium, plutonium, cobalt-60 (Co-60)
CRY/CRY O	มีความเย็นเยือกยิ่ง (Cryogenic)	ของเหลวที่มีอุณหภูมิต่ำมาก (ต่ำกว่า -150 องศาเซลเซียส) ซึ่งสามารถทำให้เกิดแผลไหม้จากความเย็น และทำให้วัสดุบางชนิดแตกเปราะได้ ตัวอย่าง: ไนโตรเจนเหลว ฮีเลียมเหลว



ตัวอย่างสัญลักษณ์แสดงความอันตรายของระบบ NFPA 704 อธิบายได้ดังนี้

1. สีแดง แสดงถึง สารไวไฟระดับ 2 ต้องให้ความร้อนมากกว่าจะติดไฟ
2. สีน้ำเงิน แสดงถึง ผลกระทบต่อสุขภาพระดับ 3 ทำให้บาดเจ็บรุนแรงหรือถึงตาย หากสัมผัสโดยไม่มีอุปกรณ์ป้องกัน
3. สีเหลือง แสดงถึง มีความไวในการเกิดปฏิกิริยาระดับ 1 ตอบสนองกับสารอื่นใดบางแต่ไม่รุนแรง
4. W คือ ทำปฏิกิริยารุนแรงกับน้ำได้

2.3.3 ระบบ UN (United Nations)

ระบบ UN Classification เป็นมาตรฐานสากลสำหรับการจำแนกและติดฉลากวัตถุอันตรายที่ใช้ในการขนส่ง ทั้งทางบก ทางเรือ และทางอากาศ โดยเน้นให้เจ้าหน้าที่และผู้เกี่ยวข้องสามารถมองเห็นความเสี่ยงได้อย่างรวดเร็วจากป้ายสัญลักษณ์ที่ติดบนบรรจุภัณฑ์หรือยานพาหนะ ระบบนี้ช่วยให้การขนส่งสารเคมีและ

วัสดุอันตรายเป็นไปอย่างปลอดภัย ลดความเสี่ยงต่ออุบัติเหตุ ไฟไหม้ การรั่วไหล หรือการปนเปื้อน โดยมีการจัดหมวดหมู่หลัก (UN Hazard Classes) ของวัสดุอันตรายออกเป็น 9 หมวด โดยแต่ละหมวดเป็นดังนี้

Class 1 – วัตถุระเบิด (Explosives) หมายถึงสารหรือวัตถุที่สามารถเกิดปฏิกิริยาอย่างรุนแรงภายในเวลาอันรวดเร็ว เช่น ระเบิด ดินปืน พลุ

Class 2 – ก๊าซ (Gases) หมายถึงก๊าซทุกชนิด ทั้งบีบอัด เหลวเย็นจัด และก๊าซไวไฟ เช่น LPG, chlorine, และ nitrogen gas

Class 3 – ของเหลวไวไฟ (Flammable liquids) หมายถึงของเหลวที่มีจุดวาบไฟต่ำ จุดติดไฟง่ายมาก เช่น ethanol, benzene, acetone

Class 4 – ของแข็งไวไฟ (Flammable solids) หมายถึงของแข็งที่ติดไฟง่าย หรือทำปฏิกิริยารุนแรงกับอากาศ/น้ำ เช่น magnesium powder, white phosphorus, sodium metal

Class 5 – สารออกซิไดซ์และออร์แกนิกเปอร์ออกไซด์ แบ่งเป็น

5.1 สารออกซิไดซ์ช่วยเร่งการเผาไหม้ เช่น sodium nitrate

5.2 ออร์แกนิกเปอร์ออกไซด์ ไม่เสถียรและอาจระเบิดได้ เช่น 30% hydrogen peroxide

Class 6 – สารพิษและสารติดเชื้อ แบ่งเป็น

6.1 Toxic substances ทำให้เกิดพิษเฉียบพลัน เช่น sodium cyanide

6.2 Infectious substances มีเชื้อโรคที่ก่อโรคในมนุษย์หรือสัตว์ เช่น ตัวอย่างเลือดติดเชื้อ

Class 7 – วัสดุกัมมันตรังสี (Radioactive materials) หมายถึงสารที่ปล่อยรังสี เช่น อัลฟา เบตา แกมมา เช่น uranium, cobalt-60

Class 8 – สารกัดกร่อน (Corrosive substances) หมายถึงสารที่สามารถกัดกร่อนโลหะหรือทำลายผิวหนัง เช่น sulfuric acid, sodium hydroxide

Class 9 – วัสดุอันตรายอื่นๆ (Miscellaneous dangerous goods) หมายถึงกลุ่มที่ไม่เข้าหมวดอื่น แต่ยังเป็นอันตราย เช่น ลิเธียมไอออนแบตเตอรี่ ไมโครพลาสติกจำนวนมาก

2.4 การจัดการของเสียในห้องปฏิบัติการเคมี

กระบวนการทดลองในห้องปฏิบัติการทำให้เกิดของเสียหลายประเภท ซึ่งจำเป็นต้องจัดการอย่างถูกต้องเพื่อความปลอดภัยและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ได้จัดแบ่งประเภทของเสีย

สารเคมีและวัตถุอันตรายในห้องปฏิบัติการออกเป็น 29 ประเภท ตามระบบ CMU Waste Track โดยสามารถจัดกลุ่มใหญ่ได้เป็น 3 ประเภทหลัก ดังนี้

1. ของเสียประเภทของเหลวอันตราย (Liquid hazardous waste)

รหัสประเภท	ชื่อประเภทของเสีย
01	ของเสียที่เป็นกรด > 5% เช่น sulfuric acid, nitric acid, hydrochloric acid
02	ของเสียที่เป็นเบส > 5% เช่น sodium hydroxide, potassium hydroxide
03	ของเสียที่เป็นเกลือ เช่น sodium chloride, ammonium nitrate
04	ฟอสฟอรัส/ฟลูออไรด์ เช่น hydrofluoric acid, fluoride compounds
05	ไซยาไนด์ เช่น sodium cyanide และสารเชิงซ้อนไซยาไนด์ (ห้ามผสมกับกรด)
06	โครเมียม เช่น สารประกอบ Cr ⁶⁺ , Cr ³⁺ , ของเสียจากการวิเคราะห์ COD
07	ปรอท เช่น ปรอท (II) คลอไรด์, เซซเทออร์โมมิเตอร์ปรอท
08	อาร์เซนิก เช่น arsenic oxide, arsenic oxide
09	ไอออนของโลหะหนักอื่นๆ เช่น barium, cadmium, lead, copper
10	ออกซิไดซ์ซิง เช่น hydrogen peroxide, potassium permanganate
11	รีดิวซ์ซิง เช่น sulfurous acid, hydrazine
12	ติดไฟได้ เช่น ตัวทำละลายอินทรีย์, แอลกอฮอล์, อีเทอร์
13	น้ำมัน เช่น น้ำมันพืช, น้ำมันเครื่อง, น้ำมันเบนซิน

รหัสประเภท	ชื่อประเภทของเสีย
14	ธาตุฮาโลเจน เช่น carbon tetrachloride, chlorobenzene
15	ของเสียอินทรีย์ที่มีน้ำผสม >5% เช่น แอลกอฮอล์ผสมน้ำ, กรดอินทรีย์ผสมน้ำ
16	สารไวไฟ เช่น acetone, hexane, methanol
17	สารที่ทำให้ภาพคงตัว เช่น ของเสียจากห้องมืดล้างรูป (มีโลหะเงิน)
18	ของเสียที่ระเบิดได้ เช่น peroxide, acetyl chloride

2. ของเสียประเภทของแข็งอันตราย (Solid hazardous waste)

รหัสประเภท	ชื่อประเภทของเสีย
19	ขวดแก้ว/ขวดสารเคมีหมดแล้ว เช่น ขวดแก้วหรือพลาสติกเปล่าที่เคยบรรจุสารเคมี
20	ขวดสารเคมี/เครื่องแก้วแตก เช่น อุปกรณ์แก้วที่แตกหรือชำรุด
21	ของเสียอันตราย (Toxic waste) เช่น chloroform, formaldehyde
22	ของแข็งปนเปื้อนจุลินทรีย์ เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง
23	ปนเปื้อนสารเคมี เช่น ทิชชู ถุงมือ หน้ากากที่ปนเปื้อนสารเคมี
24	สารกำจัดศัตรูพืชและแมลง เช่น organochlorine, carbamate
25	สารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น sodium nitrite, potassium nitrate

3. ขยะประเภทของเสียพิเศษ (Special hazardous waste)

รหัสประเภท	ชื่อประเภทของเสีย
26	Non-toxic ที่หมดอายุ เช่น สารที่ไม่เป็นพิษแต่หมดอายุ
27	ของเสียจาก Pilot plant เช่น ของเสียจากกิจกรรมใน Pilot Plant
28	ของเสียปนเปื้อน Ethidium Bromide เช่น EtBr Gel, ทิชชูที่ปนเปื้อน EtBr
29	ของเสียไม่ทราบประเภท (Unknown) เช่น ของเสียที่ไม่ทราบชนิดหรือองค์ประกอบ

บทที่ 4

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

ในฐานะนักวิทยาศาสตร์ระดับปฏิบัติการ ผู้เขียนมีภาระหน้าที่ที่ครอบคลุมหลากหลายด้าน เริ่มตั้งแต่ การเตรียมเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีให้พร้อมใช้สำหรับการเรียนการสอนในรายวิชาต่าง ๆ รวมถึงการ สนับสนุนงานวิจัยของอาจารย์และนักศึกษา การบำรุงรักษาเครื่องมือทางการศึกษา ตลอดจนการให้บริการ นักศึกษาตามความจำเป็น ผู้เขียนได้จัดทำคู่มือนี้ขึ้นจากประสบการณ์การทำงานที่ผ่านมา โดยระบุถึงปัญหา และอุปสรรคต่าง ๆ พร้อมนำเสนอแนวทางการวางแผนการปฏิบัติงานที่ชัดเจนและสอดคล้องกับมาตรฐานการ ปฏิบัติงานของบุคลากรในหน่วยงาน

หนึ่งในหน้าที่สำคัญที่เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการต้องรับผิดชอบอย่างต่อเนื่องคือ การเตรียมอุปกรณ์และ สารเคมีสำหรับการเรียนการสอนในรายวิชาชีวเคมีพื้นฐาน ซึ่งได้รับมอบหมายให้ปฏิบัติหน้าที่นี้ตั้งแต่เริ่มต้น จนสามารถพัฒนาเทคนิคและแนวทางการคิดวิเคราะห์ที่เป็นระบบแบบแผนสามารถสรุปเป็นขั้นตอนการ ปฏิบัติงานได้ดังต่อไปนี้

1. แผนงานประจำปีของห้องปฏิบัติการ (Annual work plan)
2. วิธีการและรายละเอียดการปฏิบัติงาน

1. แผนงานประจำปีของห้องปฏิบัติการ

แผนการดำเนินงานประจำปีของห้องปฏิบัติการถือเป็นองค์ประกอบสำคัญในการวางแผนและบริหารจัดการ งานต่าง ๆ ภายในห้องปฏิบัติการให้เป็นระบบและได้มาตรฐาน โดยครอบคลุมตั้งแต่การเตรียมความพร้อมก่อนเปิดภาคเรียน การสนับสนุนการปฏิบัติการระหว่างภาคเรียน ตลอดจนการสอบและสรุปผลหลัง สิ้นสุดภาคเรียนอย่างครบถ้วน ทั้งนี้คู่มือฉบับนี้จัดทำขึ้นโดยมุ่งเน้นการดำเนินงานในกระบวนวิชา 211317 (Biochemistry Laboratory I) เป็นหลัก นอกจากนี้ยังสามารถนำไปปรับใช้เป็นแนวทางสำหรับการวางแผน งานในปฏิบัติการอื่นได้เช่นกัน โดยแผนงานนี้แบ่งออกเป็น 2 ช่วงภาคการศึกษา ได้แก่

- ภาคการศึกษาที่ 1 ช่วงเดือน มิถุนายน - พฤศจิกายน
- ภาคการศึกษาที่ 2 ช่วงเดือน พฤศจิกายน - มีนาคม

โดยแต่ละภาคการศึกษาประกอบด้วย 10 หัวข้อปฏิบัติการ ซึ่งต้องมีการจัดเตรียมสารเคมี อุปกรณ์ และ เครื่องมืออย่างเหมาะสม นอกจากนี้แผนการดำเนินงานยังรวมถึงการตรวจสอบและซ่อมบำรุงอุปกรณ์ การ จัดการสารเคมีและของเสีย และการสั่งซื้ออุปกรณ์เพิ่มเติมเพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพของห้องปฏิบัติการให้ ดียิ่งขึ้น

ตารางที่ 2 แสดงแผนดำเนินงานประจำปี

ช่วงเวลา (เดือน)	กิจกรรม	รายละเอียด	ผู้รับผิดชอบ
เมษายน	จัดซื้อและจัดเตรียม อุปกรณ์	<ul style="list-style-type: none"> จัดทำรายการสารเคมีและอุปกรณ์ที่ต้องจัดซื้อ ตรวจสอบและทดสอบการทำงานของเครื่องมือ เช่น pH meter, spectrophotometer และ centrifuge 	เจ้าหน้าที่ ห้องปฏิบัติการ
พฤษภาคม	เตรียมความพร้อม ก่อนเปิดภาคเรียน	<ul style="list-style-type: none"> จัดเตรียมห้องปฏิบัติการ เตรียมสารละลายต่างๆ เช่น pH buffer, reagent ฯลฯ ปรับเทียบเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ 	เจ้าหน้าที่ ห้องปฏิบัติการ
มิถุนายน - พฤศจิกายน	ภาคการศึกษาที่ 1 (ปฏิบัติการที่ 1 - 10)	<ul style="list-style-type: none"> ชี้แจงแนวทางการปฏิบัติการแก่นักศึกษา ปฏิบัติการ: การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ การสกัดกรดนิวคลีอิก การวิเคราะห์โปรตีน ศึกษาการทำงานของเอนไซม์ คาร์โบไฮเดรต และลิพิด สอบปฏิบัติการและสรุปผลการเรียน 	อาจารย์ผู้สอน, อาจารย์ผู้สอน, เจ้าหน้าที่ ห้องปฏิบัติการ อาจารย์ผู้สอน
พฤศจิกายน	เตรียมปิดภาคเรียนที่ 1 และ ตรวจสอบ ห้องปฏิบัติการ	<ul style="list-style-type: none"> ทำความสะอาดและบำรุงรักษาอุปกรณ์ เตรียมสารละลายต่างๆ เช่น pH buffer, reagent ฯลฯ สรุปผลการดำเนินงานภาคการศึกษาที่ 1 และวางแผนสำหรับภาคการศึกษาที่ 2 	เจ้าหน้าที่ ห้องปฏิบัติการ
พฤศจิกายน- มีนาคม	ภาคการศึกษาที่ 2 (ปฏิบัติการที่ 1 - 10)	<ul style="list-style-type: none"> ชี้แจงแนวทางการปฏิบัติการแก่นักศึกษา ปฏิบัติการ: การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ การสกัดกรดนิวคลีอิก การวิเคราะห์โปรตีน ศึกษาการทำงานของเอนไซม์ คาร์โบไฮเดรต และลิพิด สอบปฏิบัติการและวัดผลการเรียน 	อาจารย์ผู้สอน, เจ้าหน้าที่ ห้องปฏิบัติการ
มีนาคม	เตรียมปิดภาคเรียนที่ 2 และ ตรวจสอบ ห้องปฏิบัติการ	<ul style="list-style-type: none"> ปิดภาคเรียนที่ 2: ทำความสะอาดห้องปฏิบัติการและตรวจสอบอุปกรณ์ ตรวจสอบและบันทึกปริมาณสารเคมีและอุปกรณ์ที่เหลือจากภาคเรียนที่ 2 	เจ้าหน้าที่ ห้องปฏิบัติการ

2. วิธีการและรายละเอียดการปฏิบัติงาน

เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการมีหน้าที่วางแผนการเตรียมงานต่าง ๆ ให้พร้อม ซึ่งแผนการต้องครอบคลุมทั้ง ก่อน ระหว่าง และหลังการทดลอง โดยเน้นการเตรียมความพร้อม การดูแลความปลอดภัย การจัดการอุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับแต่ละปฏิบัติการอย่างถูกต้อง ทั้ง 10 ปฏิบัติการ ดังนี้

ปฏิบัติการที่ 1

การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

1. การเตรียมการก่อนปฏิบัติการ (Pre-lab preparation)

การเตรียมงานก่อนการทดลองเป็นขั้นตอนสำคัญที่ช่วยให้การปฏิบัติการทางชีวเคมีเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย ช่วยลดความเสี่ยงจากข้อผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการทดลอง เช่น การขาดแคลนสารเคมีหรืออุปกรณ์ หรือการใช้งานเครื่องมือที่ไม่พร้อมทำงาน เป็นต้น นอกจากนี้ การเตรียมพื้นที่ทำงานและตรวจสอบอุปกรณ์ความปลอดภัยต่างๆยังช่วยสร้างสภาพแวดล้อมที่ปลอดภัยสำหรับนักศึกษาและเจ้าหน้าที่อีกด้วย สรุปได้ดังนี้

1.1 สารเคมี/รีเอเจนต์

	ปริมาณ*
0.10 M sodium acetate	≥750 mL
0.10 M acetic acid	≥750 mL
1.0 M sodium hydroxide	≥500 mL
1.0 M hydrochloric acid	≥500 mL
สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4, 7 และ 10	อย่างละ 1 ขวด

1.2 อุปกรณ์

	จำนวน
อุปกรณ์เครื่องแก้วพื้นฐาน	ดูในภาคผนวก ข
Burette ขนาด 50 mL	2 อันต่อกลุ่ม
Magnetic stirrer และแท่งแม่เหล็ก	1 ชุดต่อกลุ่ม
เครื่อง pH meter	1 เครื่องต่อกลุ่ม
Personal Protection Equipment (PPE)	เตรียมให้เพียงพอ

หมายเหตุ: * คือ ปริมาณสารเคมีเตรียมให้เพียงพอสำหรับ 10 กลุ่ม

1.3 การเตรียมวัตถุดิบและรีเอเจนต์สำหรับการทดลอง

การคำนวณปริมาณสารเคมีสำหรับการทดลองเป็นขั้นตอนสำคัญในการดำเนินงานของเจ้าหน้าที่ จำเป็นต้องคำนวณให้ถูกต้องและเพียงพอสำหรับนักศึกษาทุกกลุ่ม มีรายละเอียดการเตรียมดังนี้

1.3.1 การเตรียม 0.10 M sodium acetate

วิธีเตรียม ละลาย 13.6 g ของ sodium acetate (MW=136.08 g/mol) ในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 mL ใช้แท่งแก้วคนให้ละลายแล้วเก็บในขวดพลาสติก

1.3.2 การเตรียม 0.10 M acetic acid

วิธีเตรียม ละลาย 5.71 mL ของ acetic acid glacial (MW=60.05 g/mol) ในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 mL ใช้แท่งแก้วคนให้ละลายแล้วเก็บในขวดพลาสติก

1.3.3 การเตรียม 1.0 M sodium hydroxide

วิธีเตรียม ละลาย 40 g ของ sodium hydroxide (MW=40 g/mol) ในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 mL ใช้แท่งแก้วคนให้ละลายแล้วเก็บในขวดพลาสติก

1.3.4 การเตรียม 1.0 M hydrochloric acid

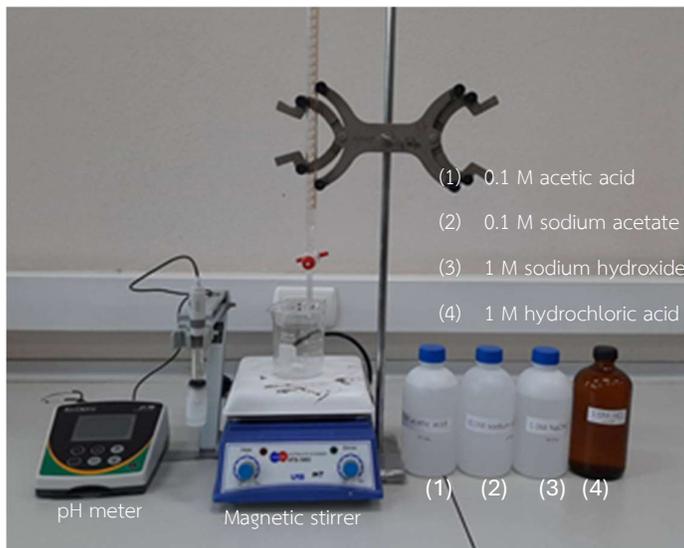
วิธีเตรียม ละลาย 83.33 mL ของ hydrochloric acid 37% (ความหนาแน่น 1.18 g/mL) ในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 mL ใช้แท่งแก้วคนให้ละลายแล้วเก็บในขวดพลาสติก

2. การจัดการระหว่างปฏิบัติการ (During lab session)

ในระหว่างปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการมีบทบาทสำคัญในการ ดูแลความปลอดภัยและ สนับสนุนนักศึกษา ให้สามารถดำเนินการทดลองได้อย่างถูกต้องและมีประสิทธิภาพ การดูแลที่ดีช่วยให้นักศึกษา เรียนรู้การใช้เครื่องมือและใช้สารเคมีได้อย่างถูกต้อง ลดข้อผิดพลาด และป้องกันอุบัติเหตุที่อาจเกิดขึ้น ดังนั้นจึงพอสรุปขั้นตอนต่างๆ ได้ดังนี้

2.1 การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์

สำหรับชุดสารเคมีและอุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับการทดลองนี้เป็นดังแสดงในรูปภาพที่ 3 ซึ่งแสดงการจัดวางและการใช้อุปกรณ์ที่เหมาะสม ในส่วนของการจัดการสารเคมีและอุปกรณ์เพื่อช่วยให้สะดวกต่อการหยิบใช้งานในการทดลองนี้ โดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจะจัดวางสารเคมีและอุปกรณ์ให้ชัดเจน ตามแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมีดังแสดงในรูปภาพที่ 4



รูปภาพที่ 3 แสดงชุดสารเคมีและอุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับการทดลองปฏิบัติการที่ 1

2.2 การควบคุมการทดลองให้ดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย

สำหรับส่วนของการควบคุมดูแลการทดลอง มีรายละเอียดดังนี้

- | | |
|----------------------------|---|
| การดูแลความปลอดภัย | <ul style="list-style-type: none"> - ตรวจสอบว่านักศึกษาสวม PPE เช่น แว่นตา ถุงมือ เสื้อคลุม อย่างถูกต้อง - ตรวจสอบให้แน่ใจว่ามีอุปกรณ์ปฐมพยาบาลและถังดับเพลิงอยู่ในระยะที่เข้าถึงได้เพื่อเตรียมความพร้อมสำหรับกรณีเกิดอุบัติเหตุ เช่น สารเคมีหก, ไฟไหม้ เป็นต้น |
| การตรวจสอบการใช้งานอุปกรณ์ | <ul style="list-style-type: none"> - ตรวจสอบว่านักศึกษาใช้ burette, pipette และ pH meter อย่างถูกต้อง และช่วยแก้ไขทันทีหากพบข้อผิดพลาด |
| การให้คำแนะนำและช่วยเหลือ | <ul style="list-style-type: none"> - ให้คำแนะนำการใช้ pH meter และ magnetic stirrer |
| การจัดการสารเคมีและของเสีย | <ul style="list-style-type: none"> - เตรียมภาชนะรองรับของเสียให้พร้อมและแยกของเสียตามประเภทกรดและเบส |

3. การจัดการหลังปฏิบัติการ (Post-lab management)

หลังจากการทดลองเสร็จสิ้นในแต่ละวัน เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการมีหน้าที่ตรวจสอบอุปกรณ์ จัดการของเสียและบันทึกข้อมูลที่สำคัญ เพื่อให้ห้องปฏิบัติการมีความปลอดภัยและพร้อมใช้งานสำหรับการทดลองครั้งต่อไป ดังนั้นการจัดการที่เป็นระบบจะช่วยลดความเสี่ยงจากอุปกรณ์ชำรุด ลดของเสียสะสม และลดการใช้สารเคมีไม่เหมาะสม ดังนั้นจึงพอสรุปขั้นตอนต่างๆ ได้ดังนี้

การตรวจสอบสารเคมีที่เหลือ* - ตรวจสอบปริมาณสารเคมีที่เหลือและจัดเก็บสารเคมีในตู้เก็บสารเคมีที่เหมาะสมและตรวจสอบฉลากสารเคมีให้ถูกต้อง

การตรวจสอบเครื่องมือและอุปกรณ์* - ตรวจสอบและทำความสะอาดอุปกรณ์ให้เรียบร้อย เช่น electrode ของ pH meter ทำความสะอาดและเก็บในสารละลาย 3 M potassium chloride

- ระวังการแตกหักของอุปกรณ์ที่เป็นแก้ว

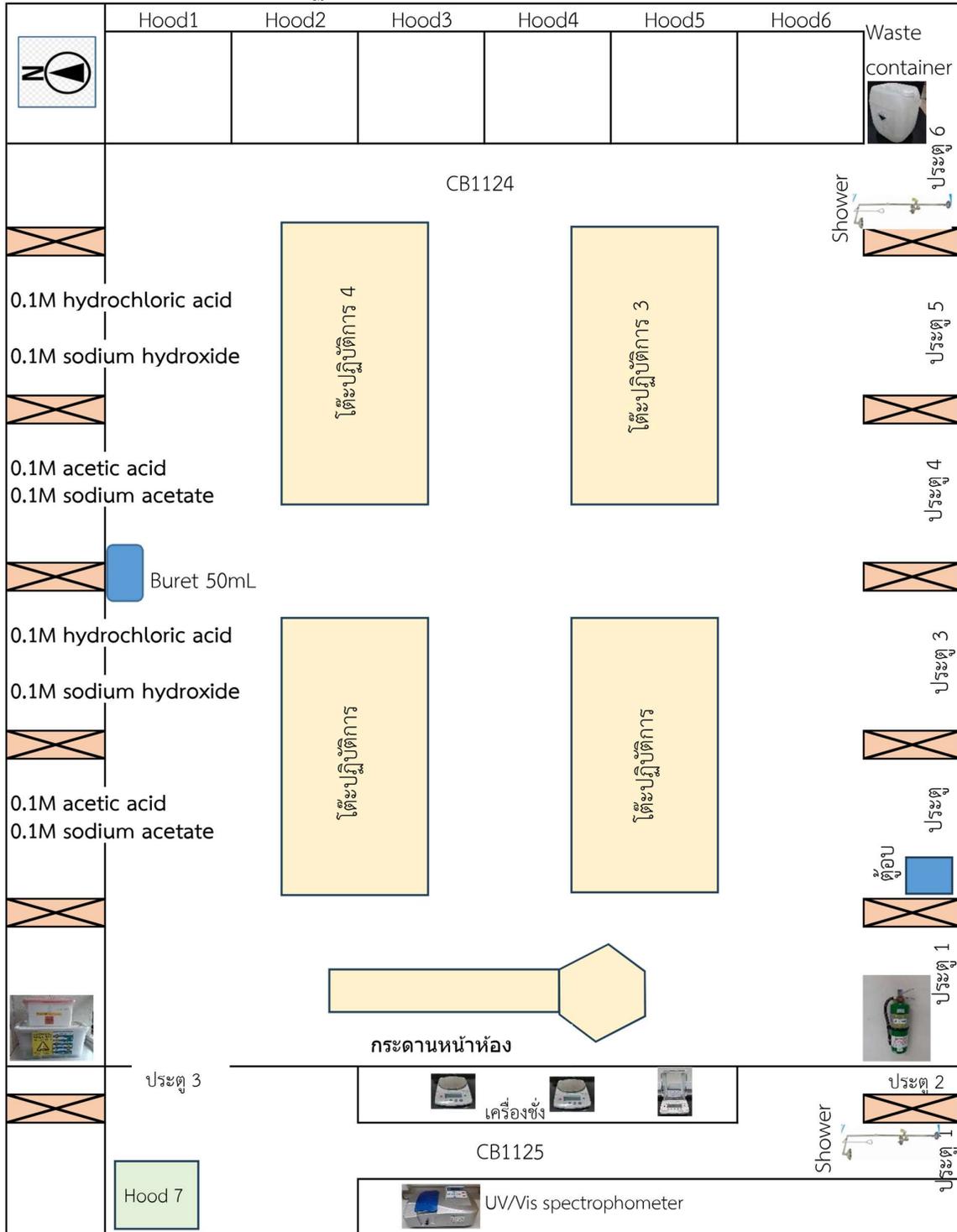
สรุปปัญหาและรายงาน - บันทึกปัญหาหรือข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลอง ระบุข้อเสนอแนะเพื่อปรับปรุงการทดลองในครั้งต่อไป

- รายงานให้อาจารย์หรือผู้ดูแลทราบ

หมายเหตุ: * ทำทันที

แผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 1 (การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์)

ห้องปฏิบัติการ CB1124 และ CB1125



รูปภาพที่ 4 แสดงแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 1 (การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์)

ปฏิบัติการที่ 2

กรณีศึกษา 1 - การสกัดและการวิเคราะห์หาปริมาณกรดนิวคลีอิก

วัตถุประสงค์ของปฏิบัติการนี้ คือ เพื่อให้นักศึกษาได้เรียนรู้กระบวนการสกัด DNA จากตัวอย่างชีวภาพ รวมถึงการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและหาปริมาณกรดนิวคลีอิก โดยที่บทบาทของเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการคือ การเตรียมความพร้อมด้านสารเคมีและอุปกรณ์ต่างๆให้พร้อม ดังนี้

1. การเตรียมการก่อนปฏิบัติการ

การเตรียมการก่อนการทดลอง เป็นขั้นตอนสำคัญที่จะช่วยให้นักศึกษาทำการทดลองดำเนินไปอย่างราบรื่นและปลอดภัย ดังนั้นต้องเตรียมอุปกรณ์และสารเคมีให้พร้อม รวมทั้งตรวจสอบระบบความปลอดภัยต่างๆ ในห้องปฏิบัติการให้เรียบร้อย ดังต่อไปนี้

1.1 สารเคมี/รีเอเจนต์

	ปริมาณ*
สารสกัดกล้วยน้ำว้า (แช่เย็นที่ -20 °C)	≥600 mL
Homogenization buffer	≥1 L
TE buffer	≥2 L
95% Ethanol (แช่เย็นที่ -20 °C)	≥2 L
Chloroform	≥2 L
ตัวอย่าง RNA ความเข้มข้น 2 mg/mL (เก็บที่ 4 °C)	≥50 mL
ตัวอย่าง DNA ความเข้มข้น 2 mg/mL (เก็บที่ 4 °C)	≥50 mL
Orcinol reagent	≥700 mL
Diphenylamine reagent	≥100 mL
Standard ribose ความเข้มข้น 30 µg/mL (เก็บที่ 4 °C)	≥45 mL
Silver diaminehydroxide (Tollen's reagent)	≥200 mL
2.5% (w/v) ammonium molybdate	≥1 L
0.2% (w/v) ascorbic acid	≥500 mL

หมายเหตุ : * คือ ปริมาณสารเคมีเตรียมให้เพียงพอสำหรับ 10 กลุ่ม

1.2 อุปกรณ์

	จำนวน
อุปกรณ์เครื่องแก้วพื้นฐาน	ดูในภาคผนวก ข
หลอดเซนตริฟิวขนาด 50 mL	2 หลอดต่อกลุ่ม
หลอดเซนตริฟิวขนาด 15 mL ชนิดฝาเกลียว	1-2 หลอดต่อกลุ่ม
แท่งแก้วคนสาร/ไม้เสียบลูกชิ้น	1-2 อันต่อกลุ่ม
อ่างน้ำแข็ง	1 อันต่อกลุ่ม
เครื่องชั่ง (ทศนิยม 2 ตำแหน่ง)	*
Spectrophotometer	*
เครื่อง centrifuge	*
อ่างน้ำร้อน	*
Personal Protection Equipment (PPE)	เตรียมให้เพียงพอ

หมายเหตุ : * จัดเครื่องมือตามความเหมาะสม

- ตรวจสอบสภาพเครื่องมือ เช่น Spectrophotometer เครื่องเซนตริฟิวให้เรียบร้อย

1.3 การเตรียมวัตถุดิบและรีเอเจนต์สำหรับการทดลอง

ในการทดลอง ต้องใช้รีเอเจนต์ที่จำเพาะสำหรับวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

1.3.1 การเตรียมสารสกัดกล้วยน้ำว้า

วิธีเตรียม หั่นกล้วยน้ำว้า ให้เป็นสี่เหลี่ยมลูกเต๋าขนาดประมาณ 3 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 100 กรัม เติม homogenization buffer ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปแช่ในอ่างน้ำอุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นทันทีในน้ำแข็ง (ใช้เวลาประมาณ 7 นาที) นำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ แล้วนำไปตั้งทิ้งไว้ในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 15 – 20 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนใสที่ความเร็ว 4000 rpm เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสเก็บแช่เย็นที่ -20 °C เพื่อนำไปทำการทดลองขั้นตอนต่อไป

1.3.2 การเตรียมสารละลาย silver diaminehydroxide หรือ Tollen's reagent

วิธีเตรียม ละลาย 1.7 g ของ silver nitrate ในน้ำกลั่นปริมาตร 30 mL คนจนเป็นสารละลายใส จากนั้นเติม 10 mL ของ 10% sodium hydroxide ลงไปจะเกิดตะกอนสีน้ำตาลของ Ag₂O จากนั้นละลาย

ตะกอนที่เกิดขึ้นด้วยแอมโมเนีย โดยค่อยๆ หยดทีละน้อย (~5 mL) พร้อมกวนเบาๆ จนตะกอนละลายหมด จนได้สารละลายใสของ silver diaminehydroxide ($[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{OH}$) ปริมาตรสุดท้าย 50 mL

ข้อระวัง : สวมถุงมือทุกครั้งเพื่อหลีกเลี่ยงการสัมผัส silver diaminehydroxide เป็นสารออกซิไดซ์รุนแรง และกัดกร่อน

1.3.3 การเตรียมรีเอเจนต์ทดสอบหมู่ฟอสเฟต

วิธีเตรียม เตรียมแยกสาร 2 ชนิด ได้แก่ 2.5% (w/v) ammonium molybdate และ 0.2% (w/v) ascorbic acid

1. เตรียมสารละลาย 2.5% (w/v) ammonium molybdate โดยละลาย 2.5 g ของ ammonium molybdate ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL เติม nitric acid เล็กน้อย ให้ละลายจนหมด เก็บไว้ในขวดสีชา

2. เตรียมสารละลาย 0.2% (w/v) ascorbic acid โดยละลาย 0.2 g ของ ascorbic acid ใน 1 M sulfuric acid ปริมาตร 100 mL เก็บไว้ในตู้เย็น

ข้อระวัง : สวมถุงมือทุกครั้งเพื่อหลีกเลี่ยงการสัมผัสกรดเข้มข้น

1.3.4 การเตรียม Diphenylamine reagent

วิธีเตรียม ละลาย 1 g ของ diphenylamine ด้วย glacial acetic acid ปริมาตร 100 mL คนจนละลายหมด จากนั้นค่อยๆ หยด sulfuric acid เข้มข้น 2.5 mL ทีละน้อย พร้อมกวนตลอดเวลา เก็บสารละลายลงในขวดแก้วสีชาปิดสนิท

ข้อระวัง : ต้องเตรียมในตู้ดูดควัน สวมถุงมือทุกครั้งเพื่อหลีกเลี่ยงการสัมผัสกรดเข้มข้น และควรเตรียมใหม่ในวันทดลอง

1.3.5 การเตรียม Orcinol reagent

วิธีเตรียม ละลาย 0.1 g ของ ferric chloride ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ใน hydrochloric acid เข้มข้น ปริมาตร 100 mL จากนั้นเติม 3.5 mL ของ 6% orcinol ในเอทานอล คนให้ทั่วแล้วเก็บในขวดปิดฝาให้แน่น

ข้อระวัง : ต้องเตรียมในตู้ดูดควัน สวมถุงมือทุกครั้งและระวังการสัมผัส hydrochloric acid

1.3.6 การเตรียม standard ribose

วิธีเตรียม ละลาย 0.015 g ของ ribose ในน้ำกลั่น 500 mL เก็บในขวดปิดฝาให้แน่น

1.3.7 การเตรียม homogenization buffer และ TE buffer ดูวิธีเตรียมในภาคผนวก ก

1.3.8 การเตรียมตัวอย่าง RNA

วิธีเตรียม ละลาย 10 mg ของ RNA ในสารละลาย 0.15 M sodium chloride ใน 0.015 M sodium citrate pH 7.0 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

1.3.9 การเตรียมตัวอย่าง DNA

วิธีเตรียม ละลาย 10 mg ของ DNA ในสารละลาย 0.5 mM Tris-buffer ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

2. การจัดการระหว่างปฏิบัติการ

สำหรับการทดลองนี้นักศึกษาจะได้เริ่มทำการสกัด DNA จากสารสกัดจากกล้วยน้ำว้าที่เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเตรียมให้ และทดสอบองค์ประกอบทางเคมีของกรดนิวคลีอิกตามวิธีการต่างๆ ซึ่งหน้าที่หลักของเจ้าหน้าที่ปฏิบัติการ คือ การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์ การควบคุมให้การทดลองดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย และการจัดการของเสียให้ถูกต้อง โดยมีรายละเอียดของขั้นตอนดังนี้

2.1 การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์

ในส่วนของจัดการสารเคมีและอุปกรณ์นั้น มีความสำคัญอย่างมากเพื่อช่วยลดความสับสนและช่วยให้เข้าใจการทดลองนี้มากขึ้น โดยการจัดวางสารเคมีและอุปกรณ์แยกตามหัวข้อการทดลองต่างๆ ให้ชัดเจน ตามแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมีดังแสดงในรูปภาพที่ 8

2.2 การควบคุมการทดลองให้ดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย

มีรายละเอียดของแต่ละขั้นตอนดังนี้

การทดลองที่ 1 การสกัด DNA จากกล้วยน้ำว้า

ชุดสารเคมีและอุปกรณ์สำหรับการทดลองนี้เป็นดังรูปภาพที่ 5 ซึ่งในส่วนของควบคุมดูแลการทดลองมีรายละเอียดดังนี้

- | | |
|-------------------------------------|--|
| ขั้นตอนการเติม chloroform | - แจ้งนักศึกษาให้ทำการเติม chloroform ในตู้ดูดควัน
- ระวังการสัมผัสและการสูดดม chloroform สวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง |
| ขั้นตอนการปั่นแยกตะกอนโปรตีน | - ให้คำแนะนำการใช้เครื่องเซนตริฟิว การชั่งน้ำหนักหลอดเซนตริฟิวให้สมดุล และคอยกำกับการใช้งานอย่างใกล้ชิด |
| ขั้นตอนการเติมเอทานอลเย็น | - แจ้งนักศึกษาระวังเอทานอลเย็นจัดและระวังการสูดดมเอทานอล ใช้ถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง |



รูปภาพที่ 5 แสดงสารเคมีและอุปกรณ์สำหรับการสกัด DNA จากกล้วยน้ำว้า

การทดลองที่ 2 การทดสอบองค์ประกอบทางเคมีของกรดนิวคลีอิก

ชุดสารเคมีและอุปกรณ์สำหรับการทดลองนี้เป็นดังรูปที่ 6 และ 7 ในส่วนของการควบคุมการทดลองให้ดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย มีรายละเอียดดังนี้

- | | |
|---|--|
| ขั้นตอนการทดสอบน้ำตาล ribose และ deoxyribose | - แจ้งนักศึกษาระวังไอกรดเข้มข้น ให้เติมสารละลายในตู้ดูดควัน ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง
- การทดลองนี้มีการต้มสารละลายในน้ำร้อน แจ้งนักศึกษาระวังน้ำร้อนและไอน้ำร้อน ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง |
| ขั้นตอนการทดสอบหมู่เบสไนโตรเจนด้วย Tollen's reagent | - แจ้งนักศึกษาระวังสารละลาย silver diaminehydroxide ซึ่งเป็นสารกัดกร่อน ใช้ถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง
- มีการต้มสารละลายในน้ำร้อน แจ้งนักศึกษาระวังน้ำเดือดและไอน้ำร้อน |
| ขั้นตอนการทดสอบหมู่ฟอสเฟต | - มีการต้มสารละลายในน้ำร้อน แจ้งนักศึกษาระวังน้ำร้อนและไอน้ำร้อน |

การทดลองที่ 3 การวิเคราะห์หาปริมาณ RNA โดยใช้ Orcinol reagent

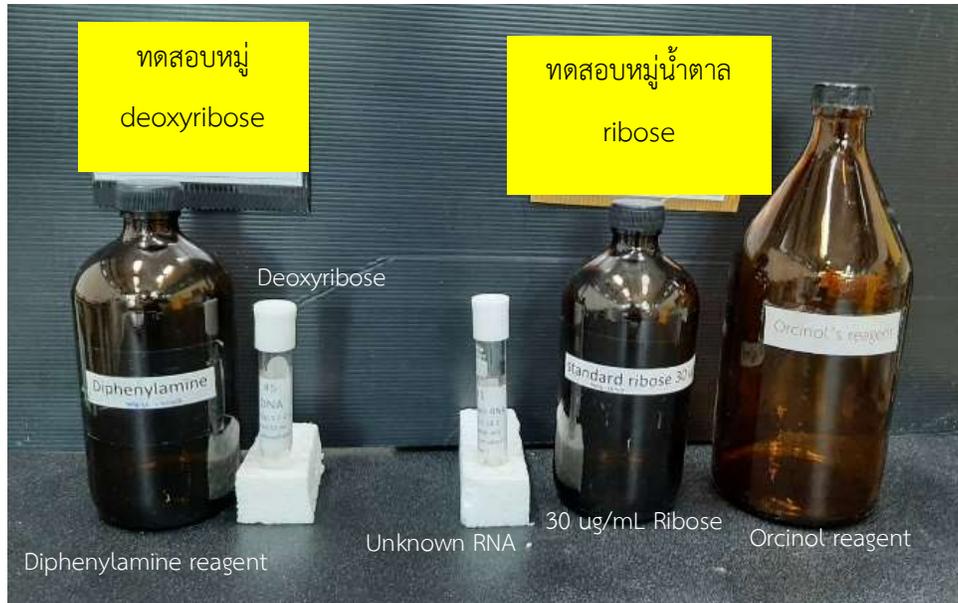
การควบคุมการทดลองให้ดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย มีรายละเอียดดังนี้

- | | |
|--|---|
| ขั้นตอนการเติมสารละลาย Orcinol reagent | - แจ้งนักศึกษาระวังไอกรดเข้มข้น ให้เติมสารละลายในตู้ดูดควัน ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง
- มีการต้มสารละลายในน้ำร้อน แจ้งนักศึกษาระวังน้ำร้อนและไอน้ำร้อน |
|--|---|

ขั้นตอนการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่
ความยาวคลื่น 665

- ตรวจสอบการทำงานและแนะนำการใช้เครื่อง spectropho-
tometer และตั้งค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 665 nm

นอกจากนี้ สิ่งสำคัญอย่างหนึ่งของการดูแลความปลอดภัย คือ การตรวจสอบให้แน่ใจว่ามีอุปกรณ์ปฐม
พยาบาลและถังดับเพลิงอยู่ในระยะที่เข้าถึงได้เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับกรณีเกิดอุบัติเหตุ เช่น สารเคมีหก, ไฟ
ไหม้ เป็นต้น



รูปภาพที่ 6 แสดงสารเคมีและอุปกรณ์สำหรับการทดสอบ deoxyribose และ ribose



รูปภาพที่ 7 แสดงสารเคมีและอุปกรณ์สำหรับการทดสอบหมู่เบสและฟอสเฟต

2.3 การจัดการของเสีย

ในส่วนนี้ต้องเตรียมภาชนะสำหรับรองรับของเสียต่างๆ โดยแยกตามประเภทอย่างถูกต้อง เพื่อให้ง่ายต่อการจัดการและกำจัดอย่างเหมาะสม นอกจากนี้ภาชนะทุกใบต้องติดฉลากให้ชัดเจนและแจ้งนักศึกษาให้ทราบถึงตำแหน่งที่วางภาชนะรองรับของเสีย โดยของเสียจากการทดลองดังนี้

ตารางที่ 3 การจัดการของเสียของปฏิบัติการที่ 2 (กรดนิวคลีอิก 1)

ประเภทของเสีย	แหล่งที่มา	การจัดการ
1. ของเสียประเภทกรด (Acidic waste)	- สารละลาย orcinol จากการทดสอบ หมู่น้ำตาล ribose และหาปริมาณ RNA - สารละลาย diphenylamine จาก การทดสอบหมู่น้ำตาล deoxyribose	- เก็บในภาชนะทนกรด
2. ของเสียฮาโลเจน (Halogenated waste)	- chloroform ที่ใช้ตกตะกอนโปรตีน จากสารสกัดกล้วยน้ำว้า	- เก็บในภาชนะที่ปิดสนิทและทน สารเคมี
3. ของเสียโลหะหนัก (Heavy metal waste)	- silver diaminehydroxide จากการ ทดสอบหมู่เบส	- เก็บในภาชนะที่ปิดสนิทและทน สารเคมี

3. การจัดการหลังปฏิบัติการ

การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์หลังการทดลองเป็นขั้นตอนสำคัญอีกขั้นตอนหนึ่งที่จะช่วยรักษาความปลอดภัยและลดความเสี่ยงจากอุบัติเหตุและข้อผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งต้องจัดการอย่างระมัดระวังหลังเสร็จสิ้นการทดลอง ในส่วนนี้จะมีรายละเอียดเกี่ยวกับการจัดการสารเคมีและอุปกรณ์หลังการทดลอง เพื่อให้การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย

การจัดการของเสีย*	- ตรวจสอบภาชนะและฝาปิดให้สนิท - ระวังไอรก ควรรวมชุด PPE ทุกครั้ง
การตรวจสอบสารเคมีที่เหลือ* ตัวอย่าง DNA ที่สกัดได้*	- ตรวจสอบภาชนะ ปริมาณสารที่เหลือและจัดเก็บให้ถูกต้อง - รวบรวมตัวอย่าง DNA ที่สกัดได้ เขียนฉลากวันเวลาให้ชัดเจนและ แช่เย็นที่ -20 °C
การตรวจสอบเครื่องมือ อุปกรณ์*	- ทำความสะอาดอุปกรณ์และเก็บเข้าที่ - ปิดเครื่อง spectrophotometer และเครื่อง centrifuge
การจัดการพื้นที่ทำงาน*	- ตรวจสอบความสะอาด คราบสารเคมีบนโต๊ะปฏิบัติการ - ตรวจสอบระบบไฟฟ้า ถอดปลั๊กเครื่องใช้ไฟฟ้าให้เรียบร้อย
สรุปปัญหาและรายงาน	- บันทึกปัญหาหรือข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลอง

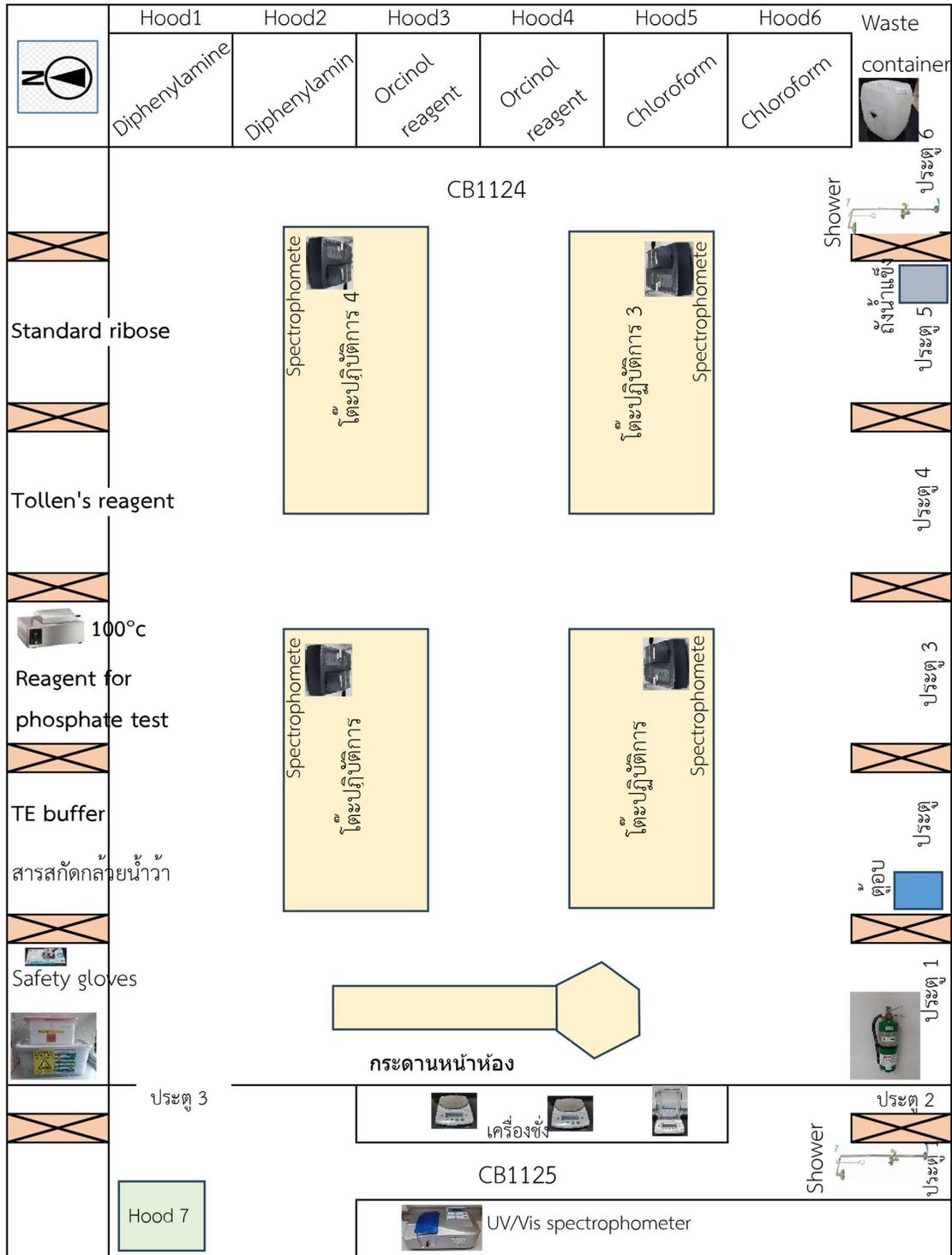
- รายงานให้อาจารย์หรือผู้ดูแลทราบ

หมายเหตุ: * ทำทันที

- ต้องสวม PPE ทุกครั้งเมื่อตรวจสอบสารเคมีทุกชนิด ระมัดระวังการสัมผัสสารเคมีโดยตรง

แผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 2: กรดนิวคลีอิก 1

ห้องปฏิบัติการ CB1124 และ CB1125



รูปภาพที่ 8 แสดงแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 2 (กรดนิวคลีอิก 1)

ปฏิบัติการที่ 3

กรดนิวคลีอิก 2 - สมบัติของกรดนิวคลีอิก

ปฏิบัติการนี้มีการทดลองที่สำคัญ 3 ส่วน ได้แก่ การหาปริมาณ DNA ด้วยวิธี diphenylamine การวัดความหนืดของ DNA และการศึกษาการเสียสภาพธรรมชาติ (Denaturation) ของ DNA ที่อุณหภูมิต่างๆ ดังนั้นเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการต้องจัดการกับสารเคมี อุปกรณ์และของเสียอันตรายต่างๆ ดังนี้

1. การเตรียมการก่อนปฏิบัติการ

การเตรียมสารเคมี รีเอเจนต์และอุปกรณ์ที่จำเป็น เป็นดังต่อไปนี้

1.1 สารเคมี/รีเอเจนต์

	ปริมาณ*
Diphenylamine reagent	≥500 mL
100 µg/mL standard deoxyribose	≥100 mL
0.05 M borate buffer pH 8.5	≥1 L

หมายเหตุ: * คือ ปริมาณสารที่ต้องเตรียมให้เพียงพอสำหรับ 10 กลุ่ม

1.2 อุปกรณ์

	จำนวน
อุปกรณ์เครื่องแก้วพื้นฐาน	ดูในภาคผนวก ข
UV-Vis Spectrophotometer	เตรียมให้เพียงพอ
Viscometer	1 อันต่อกลุ่ม
Water bath (ตั้งอุณหภูมิ 40°C, 60°C, 80°C และ 100°C)	เตรียมให้เพียงพอ
อ่างน้ำแข็ง	1 อันต่อกลุ่ม
นาฬิกาจับเวลา	1 อันต่อกลุ่ม
Personal Protection Equipment (PPE)	เตรียมให้เพียงพอ

1.3 การเตรียมวัตถุดิบและรีเอเจนต์สำหรับการทดลอง

การทดลองบนี้ ต้องใช้วัตถุดิบและรีเอเจนต์ต่อไปนี้

1.3.1 การเตรียม Diphenylamine reagent คู่มือการเตรียมได้ใน ปฏิบัติการที่ 2 กรดนิวคลีอิก 1

- การสกัดและการหาปริมาณกรดนิวคลีอิก

1.3.2 การเตรียม Standard deoxyribose

วิธีเตรียม ละลาย 0.050 g ของ deoxyribose ในน้ำกลั่นปริมาตร 500 mL เก็บในขวดปิดฝาให้แน่น และเก็บแช่เย็น

1.3.3 การเตรียม 0.05 M borate buffer pH 8.5 คู่มือเตรียมในภาคผนวก ก

2 การจัดการระหว่างปฏิบัติการ

เป็นขั้นตอนที่เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ต้องตรวจสอบความพร้อมของสารเคมีและเครื่องมือต่างๆ ให้พร้อม โดยมีรายละเอียดดังนี้

2.1 การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์

ในส่วนของจัดการสารเคมีและอุปกรณ์นั้น มีความสำคัญอย่างมากเพื่อช่วยลดความสับสนและช่วยให้เข้าใจการทดลองนี้มากขึ้น โดยการจัดวางสารเคมีและอุปกรณ์แยกตามหัวข้อการทดลองต่างๆ ให้ชัดเจน ตามแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมีดังแสดงในรูปภาพที่ 11

2.2 การควบคุมการทดลองให้ดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย

มีรายละเอียดของแต่ละขั้นตอนดังนี้

การทดลองที่ 1 การหาปริมาณ DNA ด้วยวิธี diphenylamine

การเติม diphenylamine reagent - เจ้าหน้าที่ศึกษาระวังไอกรดเข้มข้น ให้เติมสารละลายในตู้ดูดควัน ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง
- การทดลองนี้มีการต้มสารละลายในน้ำร้อน เจ้าหน้าที่ศึกษาระวังน้ำร้อนและไอน้ำร้อน ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง

การทดลองที่ 2 การศึกษาสมบัติของกรดนิวคลีอิก

- การวัดค่าความหนืดของ DNA**
- แนะนำการใช้ viscometer โดยเฉพาะการใช้การติดตั้ง viscometer ให้ถูกต้อง ตามรูปภาพที่ 10
 - การทดลองนี้มีการต้มสารละลายในน้ำร้อน แจ็งนักศึกษาระวังน้ำร้อนและไอน้ำร้อน ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง
- การศึกษาการเสียดสภาพธรรมชาติ (Denaturation)**
- เครื่อง spectrophotometer ตั้งค่าความยาวคลื่นเป็น 260 nm
 - เตรียม water bath ที่อุณหภูมิต่างๆ ได้แก่ 40°C, 60°C, 80°C และ 100°C
 - การทดลองนี้มีการต้มสารละลายในน้ำร้อนหลายอุณหภูมิ แจ็งนักศึกษาระวังน้ำร้อนและไอน้ำร้อน ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง



รูปภาพที่ 9 แสดงรีเอเจนต์สำหรับการหาปริมาณ DNA ด้วยวิธี diphenylamine

2.3 การจัดการของเสีย

ในส่วนนี้ต้องเตรียมภาชนะสำหรับรองรับของเสียให้ถูกต้องตามประเภท เพื่อให้ง่ายต่อการจัดการและกำจัดอย่างเหมาะสม ดังนี้

- ของเสียประเภทกรด (Acidic waste)** - แหล่งที่มาคือ สารละลาย diphenylamine จากการทดลองหาปริมาณ DNA ต้องเก็บในภาชนะทนกรดและต้องติดฉลากให้ชัดเจน

- แจ้างตำแหน่งที่วางภาชนะรองรับของเสียให้นักศึกษาทราบ และให้ระวังต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้งที่ตั้งลงขวดของเสีย



รูปภาพที่ 10 แสดงวิธีการติดตั้ง viscometer

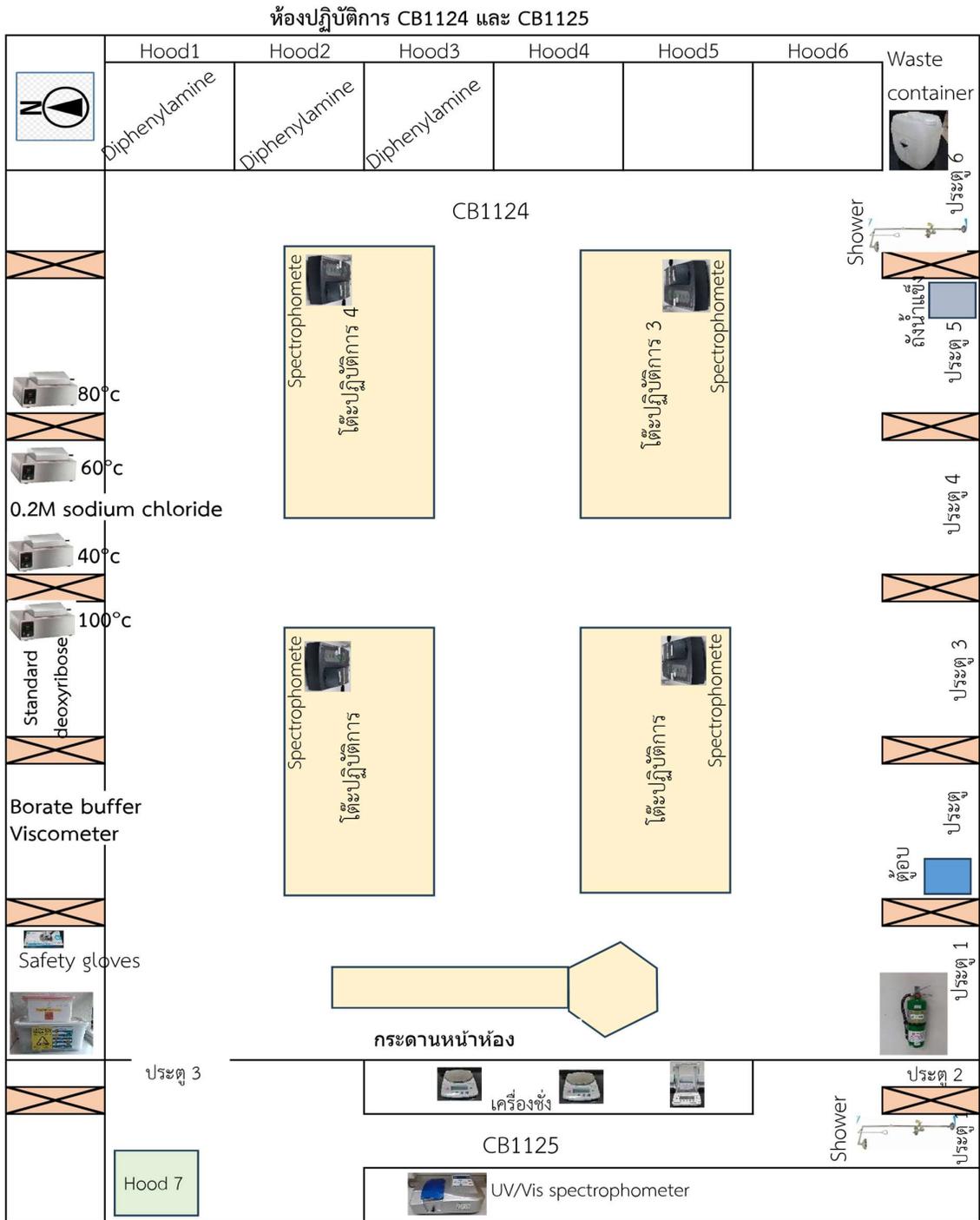
3. การจัดการหลังปฏิบัติการ

การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์หลังการทดลองต้องดำเนินการอย่างระมัดระวังเพื่อให้การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย ในส่วนนี้จะมีรายละเอียดเกี่ยวกับการจัดการสารเคมีและอุปกรณ์หลังการทดลอง ดังนี้

- | | |
|--------------------------------------|---|
| การจัดการของเสีย* | <ul style="list-style-type: none"> - ตรวจสอบภาชนะและฝาปิดให้สนิท - ระวังไอรก ควบคุมชุด PPE ทุกครั้ง |
| การตรวจสอบสารเคมีที่เหลือ* | <ul style="list-style-type: none"> - ตรวจสอบภาชนะ ปริมาณสารที่เหลือและจัดเก็บให้ถูกต้อง |
| การตรวจสอบเครื่องมือ อุปกรณ์* | <ul style="list-style-type: none"> - Viscometer ตรวจสอบการแตกร้าว (หากมี) จัดเก็บให้เรียบร้อย - ปิดเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer หากมีสารหกเลอะเทอะให้เช็ดทำความสะอาดทันที |
| สรุปปัญหาและรายงาน | <ul style="list-style-type: none"> - บันทึกปัญหาหรือข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลอง - รายงานให้อาจารย์หรือผู้ดูแลทราบ |

หมายเหตุ: * ทำทันที

แผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 3 (กรดนิวคลีอิก 2)



รูปภาพที่ 11 แสดงแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 3 (กรดนิวคลีอิก 2)

ปฏิบัติการที่ 4

โปรตีน 1 - กรดอะมิโนและโปรตีน

1. การเตรียมการก่อนปฏิบัติการ

ในส่วนนี้จะครอบคลุมการเตรียมสารเคมีการทดสอบต่างๆ และอุปกรณ์ที่จำเป็น โดยต้องคำนึงถึงปริมาณสารเคมีที่ต้องเตรียมให้เพียงพอ รวมถึงการจัดเตรียมอุปกรณ์ เช่น แผ่น silica gel สำหรับการทำให้ TLC และ pH meter เป็นต้น

1.1 สารเคมี/รีเอเจนต์

	ปริมาณ*
0.1 M sodium acetate, pH 5.0	≥500 mL
Ninhydrin reagent	≥300 mL
0.5% copper sulphate	≥50 mL
10% sodium hydroxide	≥1 L
40% sodium hydroxide	≥200 mL
2 M lead acetate	≥500 mL
10% trichloroacetic acid	≥500 mL
Saturated ammonium sulphate	≥500 mL
0.1 M acetic acid	≥1.5 L
0.1 M sodium acetate	≥2 L
Mobile phase (butanol:acetic acid:water:1% ninhydrin (5:3:2:1))	≥2 L
2% กรดอะมิโนมาตรฐาน (Gly, Pro, Cys, Met, His, Tyr และ Ser) สำหรับ TLC	1ชุด/กลุ่ม
1% สารละลายโปรตีนและกรดอะมิโน (ดูในตารางที่ 3)	

หมายเหตุ: * คือ ปริมาณสารที่ต้องเตรียมให้เพียงพอสำหรับ 10 กลุ่ม

1.2 อุปกรณ์

	จำนวน
อุปกรณ์เครื่องแก้วพื้นฐาน	ดูในภาคผนวก ข
อ่างน้ำเดือด	เตรียมให้เพียงพอ
pH meter	เตรียมให้เพียงพอ
ตุ๋น 110 °C	1 เครื่อง
TLC chamber	1 โถ/2 กลุ่ม
แผ่น TLC (ขนาด 10x10 cm)	1 แผ่น/กลุ่ม
Capillary tubes สำหรับหยดสารตัวอย่าง	เตรียมให้เพียงพอ
เครื่องเป่าลมร้อน	เตรียมให้เพียงพอ
Personal Protection Equipment (PPE)	เตรียมให้เพียงพอ

1.3 การเตรียมวัตถุดิบและรีเอเจนต์สำหรับการทดลอง

รีเอเจนต์ที่ใช้ในการวิเคราะห์กรดอะมิโนและโปรตีนแยกตามวิธีการทดลอง พร้อมวิธีการเตรียมและข้อควรระวังด้านความปลอดภัย สรุปได้ดังนี้

1.3.1 การเตรียมรีเอเจนต์สำหรับ Ninhydrin test

วิธีเตรียม โดยละลาย 0.2 g ของ ninhydrin ในเอทานอล ปริมาตร 100 mL คนให้ละลายจนหมด จากนั้นเติม 10 mL ของ glacial acetic acid คนให้เข้ากัน

ข้อระวัง : ต้องเตรียมในตู้ดูดควัน สวมถุงมือทุกครั้งและระวังการสัมผัสกรดเข้มข้น

1.3.2 การเตรียมรีเอเจนต์สำหรับ Biuret test

วิธีเตรียม เตรียมสารแยกเป็น 2 ชนิด ดังนี้

1. สารละลาย 0.5% copper sulphate: ละลาย 0.5 g ของ copper sulphate ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL แล้วเก็บในขวดแก้วสีชา
2. สารละลาย 10% sodium hydroxide: ละลาย 10 g ของ sodium hydroxide ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL แล้วเก็บในขวดพลาสติก

ข้อระวัง: สวมถุงมือทุกครั้งและระวังการสัมผัสเบสเข้มข้น

ตารางที่ 4 ชนิดสารละลายโปรตีนและกรดอะมิโนที่ใช้ในแต่ละการทดลอง

	สารละลายโปรตีนและกรดอะมิโน									
	1%	1%	1%	1%	1%	1%	1%	1%	10%	40%
	Urea	Glycine	Proline	Casein	Biuret	Cysteine	Methionine	Gelatin	ไข่ขาว	ไข่ขาว
Ninhydrine test	✓	✓	✓	✓						
Biuret test	✓	✓		✓	✓					
Sulfhur test		✓		✓		✓	✓			
Heat precipitation				✓				✓	✓	
Acid precipitation				✓					✓	
Salting out										✓
ปริมาณ* (mL)	400	400	400	800	400	400	400	400	400	100

หมายเหตุ: * คือ ปริมาณสารที่ต้องเตรียมให้เพียงพอสำหรับ 10 กลุ่ม

1.3.3 การเตรียมรีเอเจนต์สำหรับ Sulphur test

วิธีเตรียม เตรียมสารแยกเป็น 2 ชนิด ดังนี้

1. สารละลาย 2M lead acetate: ละลาย 76 g ของ lead acetate ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL แล้วเก็บในขวดแก้วสีชา
2. สารละลาย 40% sodium hydroxide: ละลาย 40 g ของ sodium hydroxide ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL แล้วเก็บในขวดพลาสติก

ข้อระวัง: สวมถุงมือทุกครั้งและระวังการสัมผัสสเปซเข้มข้น

1.3.4 การเตรียมรีเอเจนต์สำหรับการตกตะกอนโปรตีนด้วยกรด

วิธีเตรียม สารละลาย 10% trichloroacetic acid โดยละลาย 10 g ของ trichloroacetic acid ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL แล้วเก็บในขวดแก้วสีชา

ข้อระวัง: สวมถุงมือทุกครั้งและระวังการสัมผัสกรด trichloroacetic acid

1.3.5 การเตรียมรีเอเจนต์สำหรับการตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือ

วิธีเตรียม สารละลายอิ่มตัว ammonium sulphate โดยละลาย ammonium sulphate ในน้ำกลั่น 100 mL โดยค่อยๆเติมและคนตลอดเวลา จนกระทั่งสารละลายอิ่มตัวแล้วเก็บในขวดพลาสติกหรือขวดแก้วก็ได้

1.3.6 การเตรียมรีเอเจนต์สำหรับการหาจุดสะเทินไฟฟ้า (isoelectric point, PI)

วิธีเตรียม เตรียมสารแยกเป็น 3 ชนิด ดังนี้

1. เตรียม 0.1 M acetate buffer pH 5.0 ดูวิธีเตรียมในภาคผนวก ก
2. เตรียม 0.1 M acetic acid: ตวง acetic acid glacial (MW=60.05 g/mol) ปริมาตร 5.71 mL ละลายในน้ำกลั่นอย่างละปริมาตร 1000 mL ใช้แท่งแก้วคน แล้วเก็บในขวดพลาสติก
3. เตรียม 0.01 M sodium acetate: ละลาย 1.36 g ของ sodium acetate (MW=136.08 g/mol) ในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 mL ใช้แท่งแก้วคนให้ละลายแล้วเก็บในขวดพลาสติก

1.3.7 การเตรียม mobile phase สำหรับ TLC

วิธีเตรียม ผสมสาร butanol:acetic acid:water:1% ninhydrin สัดส่วน 5:3:2:1 โดยตวงสารต่างๆ ปริมาตร 500, 300, 200 และ 10 mL ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันเก็บใส่ขวดแก้วที่มีฝาปิดมิดชิด

ข้อระวัง : ต้องทำในตู้ดูดควัน สวมถุงมือทุกครั้งและหน้ากากป้องกันไอระเหย

1.3.8 การเตรียมสารละลายกรดอะมิโนมาตรฐาน

วิธีเตรียม เตรียมสารแยกเป็น 2 ชุด ดังนี้

1. กรดอะมิโนมาตรฐานความเข้มข้น 2% สำหรับการแยกและการวิเคราะห์กรดอะมิโนโดย TLC: ละลายกรดอะมิโนแต่ละชนิด ได้แก่ (1) glycine (2) proline (3) cysteine (4) methionine (5) histidine (6) tyrosine และ (7) serine ปริมาณ 0.2 g ในน้ำกลั่นปริมาตร 10 mL คนให้ละลายเก็บใส่ขวดที่มีฝาปิดมิดชิด

2. สารละลายโปรตีนและกรดอะมิโนความเข้มข้น 1% สำหรับการทดสอบคุณสมบัติต่างๆโปรตีน ได้แก่ (1) urea (2) biuret (3) glycine (4) tyrosine (5) casein (6) cysteine (7) methionine (8) proline (9) histidine (10) serine และ (11) gelatin ละลายแต่ละชนิดอย่างละ 1 g ในน้ำกลั่น 100 mL ใช้แท่งแก้วคนให้ละลายแล้วเก็บในขวดติดฉลากให้ชัดเจน

1.3.9 การเตรียมสารละลาย 10% และ 40% โซ้ขาว

วิธีเตรียม เตรียมสารแยกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

1. เตรียมสารละลาย 1.5 % sodium chloride: ละลาย 15 g ของ sodium chloride ในน้ำกลั่น 1L
2. เตรียมสารละลาย 10% และ 40% โซ้ขาว: ตวงโซ้ขาวปริมาตร 90 และ 40 mL ละลายในสารละลายข้อ 1 ปริมาตร 810 และ 60 mL ตามลำดับ

2. การจัดการระหว่างปฏิบัติการ

ระหว่างปฏิบัติการเป็นขั้นตอนที่สำคัญซึ่งต้องปฏิบัติตามวิธีการทดลองอย่างเคร่งครัด โดยเฉพาะการทดลองที่ต้องใช้น้ำร้อนและสารเคมีอันตราย ในส่วนนี้จะเน้นให้เห็นถึงการจัดการสารเคมีและอุปกรณ์ การควบคุมให้การทดลองดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย และการจัดการของเสียให้ถูกต้อง โดยมีรายละเอียดของขั้นตอนดังนี้

2.1 การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์

การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์ จะทำการจัดวางสารเคมีและอุปกรณ์แยกตามหัวข้อการทดลองต่างๆ ให้ชัดเจน ตามแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมีดังแสดงในรูปภาพที่ 15

2.2 การควบคุมการทดลองให้ดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย

มีรายละเอียดของแต่ละขั้นตอนดังนี้

การทดลองที่ 1: ปฏิกริยาของหมู่ฟังก์ชันในกรดอะมิโนและโปรตีน

- Ninhydrin test, Sulphur test และ Biuret test**
- จัดชุดการทดลองต่างๆ และเขียนป้ายบอกให้ชัดเจน ตามรูปภาพที่ 12
 - การทดลองนี้มีการต้มสารละลายในน้ำร้อน แฉ่งนักศึกษาให้ระวังน้ำร้อนและไอน้ำร้อน ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง
 - การเติม 10% และ 40% sodium hydroxide แฉ่งนักศึกษาระวังเบสเข้มข้น ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง

การทดลองที่ 2: การตกตะกอนและการละลายของโปรตีน

- การตกตะกอนด้วยความร้อน**
- จัดชุดการทดลองตามรูปภาพที่ 13 การทดลองนี้มีการต้มสารละลายในน้ำร้อน แฉ่งนักศึกษาระวังน้ำร้อนและไอน้ำร้อน ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง
- การตกตะกอนด้วยกรด**
- จัดชุดรีเอเจนต์สำหรับทดลองและเขียนป้ายบอกให้ชัดเจน
 - แฉ่งนักศึกษาระวังกรดเข้มข้น ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง
- การตกตะกอนด้วยเกลือ ammonium sulphate**
- จัดชุดรีเอเจนต์สำหรับทดลองและเขียนป้ายบอกให้ชัดเจน
 - แฉ่งนักศึกษาระวังต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง
- จุดสะเทินไฟฟ้า(PI)**
- แนะนำการใช้เครื่อง pH meter นักศึกษา โดยเน้นเรื่องการทำความสะดวกและระมัดระวังส่วนของ electrode

การทดลองที่ 3: การแยกและการวิเคราะห์กรดอะมิโนโดย TLC

- การแยกกรดอะมิโนด้วยเทคนิค TLC**
- จัดชุดการทดลองตามรูปภาพที่ 14 แฉ่งนักศึกษาระวังการใช้ capillary tubes ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง
 - การทดลองนี้มีการอบแผ่น silica gel ที่ 110°C 10 นาที แฉ่งนักศึกษาระวังความร้อนของตู้อบ



รูปภาพที่ 12 แสดงการจัดชุดสารเคมีสำหรับ Ninhydrin test, Sulphur test และ Biuret test



รูปภาพที่ 13 แสดงการจัดชุดสารเคมีสำหรับการตกตะกอนและการละลายของโปรตีน



รูปภาพที่ 14 แสดงชุดอุปกรณ์การทดลองการแยกและวิเคราะห์กรดอะมิโน

2.3 การจัดการของเสีย

ในส่วนนี้ต้องเตรียมภาชนะสำหรับรองรับของเสียต่างๆ โดยแยกตามประเภทอย่างถูกต้อง เพื่อให้ง่ายต่อการจัดการและกำจัดอย่างเหมาะสม นอกจากนี้ภาชนะทุกใบต้องติดฉลากให้ชัดเจนและแจ้งนักศึกษาให้ทราบถึงตำแหน่งที่วางภาชนะรองรับของเสีย โดยของเสียจากการทดลองดังนี้

ตารางที่ 5 การจัดการของเสียของปฏิบัติการที่ 4 (โปรตีน 1)

ประเภทของเสีย	แหล่งที่มา	วิธีการจัดการ
1. ของเสียโลหะหนัก (Heavy metal waste)	- ตะกอน PbS จาก Sulphur test และโลหะทองแดงจาก copper sulphate	- เก็บในภาชนะที่ปิดสนิทและทนสารเคมี - ติดป้ายระบุ "ของเสียโลหะหนัก" "ของเสียชนิดกรด" "ของเสียชนิดของแข็ง" และ
2. ของเสียชนิดกรด (Acidic waste)	- การตกตะกอนด้วยกรด 10% trichloroacetic acid	"ของเสียชนิดเศษแก้วแตก" - รอดำเนินการส่งหน่วยงานจัดการของเสียอันตราย

ประเภทของเสีย	แหล่งที่มา	วิธีการจัดการ
3. ของเสียชนิดของแข็ง (Solid - แผ่น TLC ใช้แล้ว waste)		
4. ของเสียชนิดเศษแก้วแตก - Capillary tube ที่ใช้แล้ว (Glass waste)		

3. การจัดการหลังปฏิบัติการ

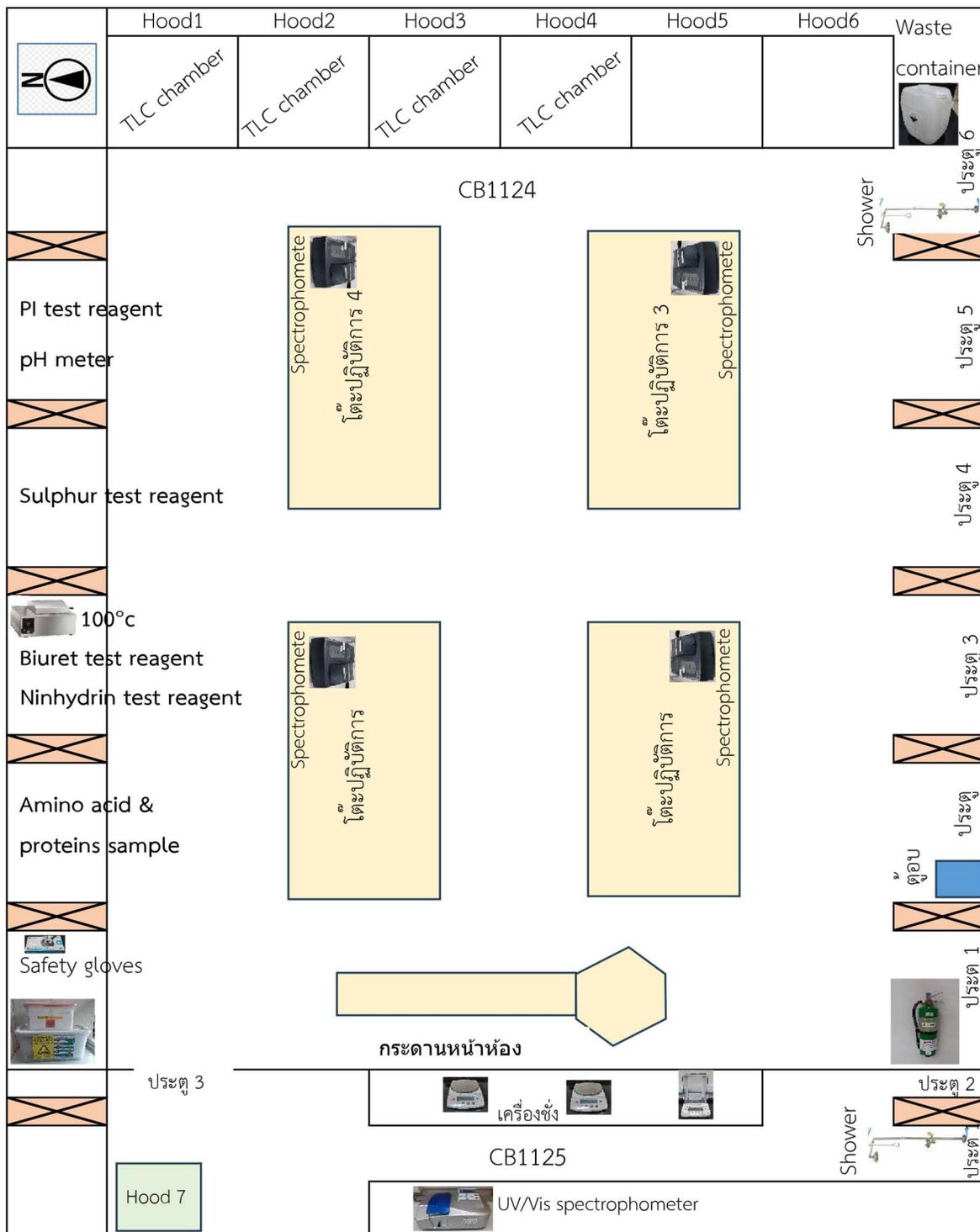
การจัดการหลังปฏิบัติการเป็นขั้นตอนที่ไม่ควรมองข้าม เนื่องจากเกี่ยวข้องกับการจัดการสารเคมีที่ใช้แล้ว อุปกรณ์ที่ปนเปื้อน และการทำความสะอาดพื้นที่ รวมทั้งการจัดเก็บของเสียอย่างถูกต้อง เพื่อให้พร้อมสำหรับการทดลองครั้งต่อไป ซึ่งการจัดการหลังปฏิบัติการที่ดีจะช่วยรักษาสภาพแวดล้อมในห้องปฏิบัติการให้พร้อมสำหรับการทดลองครั้งต่อไป และมีความปลอดภัยของผู้ใช้งานอีกด้วย

จัดการของเสีย*	- ปิดฝาภาชนะสนิท ตรวจสอบฉลากและวันที่ แยกประเภทตามความอันตราย ได้แก่ "ของเสียโลหะหนัก" "ของเสียชนิดกรด" "ของเสียชนิดของแข็ง" และ "ของเสียชนิดเศษแก้วแตก"
	- ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้งที่ต้องจัดการกับของเสีย
ตรวจสอบสารเคมีคงเหลือ*	- ตรวจสอบสภาพและปริมาณคงเหลือของสารเคมีและรีเอเจนต์ทุกตัว ปิดฝาให้แน่นและเก็บที่อุณหภูมิเหมาะสม
	- ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้งที่ต้องจัดการกับของเสีย
การตรวจสอบเครื่องมือ อุปกรณ์*	- อ่างน้ำร้อน ตรวจสอบระดับน้ำไม่ให้แห้ง ปิดเครื่องถอดปลั๊กให้เรียบร้อย
การจัดการพื้นที่ทำงาน*	- ตรวจสอบความสะอาด คราบสารเคมีบนโต๊ะปฏิบัติการ
	- ตรวจสอบระบบไฟฟ้า ถอดปลั๊กเครื่องใช้ไฟฟ้าให้เรียบร้อย
สรุปปัญหาและรายงาน	- บันทึกปัญหาหรือข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลอง
	- ระบุข้อเสนอแนะเพื่อปรับปรุงการทดลองในครั้งต่อไป

หมายเหตุ: * ทำทันที

แผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 4 (โปรตีน 1: กรดอะมิโนและโปรตีน)

ห้องปฏิบัติการ CB1124 และ CB1125



ปฏิบัติการที่ 5

โปรตีน 2 – การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

1. การเตรียมการก่อนปฏิบัติการ

ในส่วนนี้จะครอบคลุมการเตรียมสารเคมี รีเอเจนต์ทดสอบต่างๆ และอุปกรณ์ที่จำเป็น โดยต้องคำนึงถึงปริมาณสารเคมีที่ต้องเตรียมให้เพียงพอ ตามตารางต่อไปนี้

1.1 สารเคมี/รีเอเจนต์

	ปริมาณ*
10 mg/mL BSA	≥200 mL
2.0 mg/mL BSA	≥300 mL
0.2 mg/mL BSA	≥300 mL
สารละลายโปรตีนตัวอย่าง (สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ)	≥100 mL
10% โซเดียมคลอไรด์ 0.15% sodium chloride	≥100 mL
0.5% โซเดียมคลอไรด์ 0.15% sodium chloride	≥200 mL
Biuret reagent	≥500 mL
Alkaline copper sulphate	≥500 mL
dil. Folin reagent	≥50 mL
Coomassie reagent	≥400 mL

หมายเหตุ: * คือ ปริมาณสารที่ต้องเตรียมให้เพียงพอสำหรับ 10 กลุ่ม

1.2 อุปกรณ์

	จำนวน
อุปกรณ์เครื่องแก้วพื้นฐาน	ดูในภาคผนวก ข
UV/Vis Spectrophotometer พร้อม glass และ quartz cuvette	เตรียมให้เพียงพอ
เครื่องเขย่าหลอดทดลอง	เตรียมให้เพียงพอ
Personal Protection Equipment (PPE)	เตรียมให้เพียงพอ

1.3 การเตรียมวัตถุดิบและรีเอเจนต์สำหรับการทดลอง

รีเอเจนต์ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในกระบวนวิชานี้ พร้อมวิธีการเตรียมและข้อควรระวังด้านความปลอดภัย สรุปได้ดังนี้

1.3.1 การเตรียม Biuret reagent

วิธีเตรียม ละลาย 6 g ของ sodium potassium tartrate (หรือ Rochelle salt) และ 1.5 g ของ copper sulphate ในน้ำกลั่น 500 mL คนจนละลายหมด จากนั้นค่อยๆ เติม 300 mL ของ 10% sodium hydroxide คนตลอดเวลา จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1L

ข้อระวัง : สวมถุงมือและระวังการสัมผัสเบสเข้มข้น

1.3.2 การเตรียม Alkaline copper sulphate

วิธีเตรียม เตรียมแยกเป็น 2 ส่วน คือ สาร A และ B โดยการใช้งานต้องทำการผสมสาร A:B ในสัดส่วน 50:1 และต้องเตรียมใหม่ทุกวัน

สาร A : ละลาย 2 g ของ sodium carbonate ใน 0.1N sodium hydroxide ปริมาตร 100 mL (0.1 N sodium hydroxide => 0.4 g sodium hydroxide ในน้ำ 100mL) เก็บในขวดพลาสติก

สาร B : ละลาย 0.5 g ของ copper sulphate และ 1 g ของ sodium potassium tartrate (หรือ Rochelle salt) ในน้ำกลั่น 100 mL เก็บในขวดแก้ว

ข้อระวัง : สวมถุงมือและระวังการสัมผัสเบสเข้มข้น

1.3.3 การเตรียม diluted Folin reagent

วิธีเตรียม เจือจางสาร Folin-Ciocalteu reagent (เข้มข้น 2.0 N) ด้วยน้ำอัตราส่วน 1:1

ข้อระวัง : สวมถุงมือและระวังการสัมผัสสารโดยตรง

1.3.4 การเตรียม Coomassie reagent

วิธีเตรียม ละลาย 100 mg ของ Coomassie brilliant blue G-250 ในเอทานอล 50 mL คนจนละลายหมด เติม 85% phosphoric acid ปริมาตร 100 mL ในตู้ดูดควัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 L เก็บในขวดแก้วปิดฝาให้สนิท

ข้อระวัง: สวมถุงมือและระวังการสัมผัสกรดเข้มข้น

1.3.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน bovine serum albumin (BSA)

วิธีเตรียม เตรียมละลาย BSA ความเข้มข้น คือ 0.2, 2 และ 10 mg/mL โดยชั่ง BSA ปริมาณ 20 200 และ 1000 mg ละลายในน้ำกลั่นอย่างละ 100 mL คนจนละลายเก็บในขวดที่ติดฉลากชัดเจน

1.3.6 การเตรียมสารละลาย 0.5% และ 10% โซเดียมคลอไรด์

วิธีเตรียม เตรียมสารแยกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

1. เตรียมสารละลาย 1.5 % sodium chloride: ละลาย 15 g ของ sodium chloride ในน้ำกลั่น 1000 mL คนให้ละลาย

2. เตรียมสารละลาย 0.5% และ 10% ไข่ขาว: ตวงไข่ขาวปริมาตร 0.5 และ 90 mL ละลายในสารละลายข้อ 1 ปริมาตร 99.5 และ 810 mL ตามลำดับ

1.3.7 การเตรียมสารละลายโปรตีนตัวอย่าง

วิธีเตรียม เจือจางสารละลาย 2 mg/mL BSA ให้มีความเข้มข้นในช่วง 1-1.5 mg/mL

2. การจัดการระหว่างปฏิบัติการ

ระหว่างปฏิบัติการเป็นขั้นตอนที่สำคัญซึ่งต้องปฏิบัติตามวิธีการทดลองอย่างเคร่งครัด โดยเฉพาะการทดลองที่ต้องใช้น้ำร้อนและสารเคมีอันตราย ในส่วนนี้จะเน้นให้เห็นถึงการจัดการสารเคมีและอุปกรณ์ การควบคุมให้การทดลองดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย และการจัดการของเสียให้ถูกต้อง โดยมีรายละเอียดของขั้นตอนดังนี้

2.1 การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์

การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์ จะทำการจัดวางสารเคมีและอุปกรณ์แยกตามหัวข้อการทดลองต่างๆ ให้ชัดเจน ตามแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมีดังแสดงในรูปภาพที่ 18

2.2 การควบคุมการทดลองให้ดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย

มีรายละเอียดของแต่ละขั้นตอนดังนี้

- | | |
|-------------------------------|---|
| การทดลองที่ 1: วิธี A_{280} | - จัดชุดการทดลองต่างๆ และเขียนป้ายบอกให้ชัดเจน ตามรูปภาพที่ 16
- แนะนำการใช้เครื่อง UV/Vis spectrophotometer และตั้งค่าความยาวคลื่นเป็น 280 nm |
| การทดลองที่ 2: วิธี Biuret | - จัดชุดการทดลองต่างๆ และเขียนป้ายบอกให้ชัดเจน
- แนะนำการใช้เครื่อง spectrophotometer และตั้งค่าความยาวคลื่นเป็น 570 nm |
| การทดลองที่ 3: วิธี Lowry | - จัดชุดการทดลองต่างๆ และเขียนป้ายบอกให้ชัดเจน ตามรูปภาพที่ 17
- ตั้งค่าความยาวคลื่นเครื่อง spectrophotometer เป็น 750 nm |
| การทดลองที่ 4: วิธี Coomassie | - จัดชุดการทดลองต่างๆ และเขียนป้ายบอกให้ชัดเจน
- ตั้งค่าความยาวคลื่นเครื่อง spectrophotometer เป็น 595 nm |

ข้อระวัง: เจ้าหน้าที่ศึกษาต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้งไม่สัมผัส reagent ต่างๆ โดยตรง



รูปภาพที่ 16 แสดงการจัดชุดสารเคมี สำหรับการทดลองวิธี A₂₈₀ และ Biuret



รูปภาพที่ 17 แสดงการจัดชุดสารเคมี สำหรับการทดลองวิธี Lowry และ Coomassie

2.3 การจัดการของเสีย

ในส่วนนี้ต้องเตรียมภาชนะสำหรับรองรับของเสียต่างๆ โดยแยกตามประเภทอย่างถูกต้อง เพื่อให้ง่ายต่อการจัดการและกำจัดอย่างเหมาะสม นอกจากนี้ภาชนะทุกใบต้องติดฉลากให้ชัดเจนและแจ้งนักศึกษาให้ทราบถึงตำแหน่งที่วางภาชนะรองรับของเสีย โดยของเสียจากการทดลองดังนี้

ตารางที่ 6 การจัดการของเสียของปฏิบัติการที่ 5 (โปรตีน 2)

ประเภทของเสีย	แหล่งที่มา	วิธีการจัดการ
ของเสียโลหะหนัก (Heavy metal waste)	โลหะทองแดง copper sulphate	- เก็บในภาชนะที่ปิดสนิทและทนสารเคมี
	จาก biuret reagent	- ติดป้ายระบุ "ของเสียโลหะหนัก" และ
ของเสียอันตราย (Hazardous waste)	- จากสารละลายสีย้อม Coomassie	"ของเสียอันตราย"
	และ Folin reagent	- รอดำเนินการส่งกำจัด

3. การจัดการหลังปฏิบัติการ

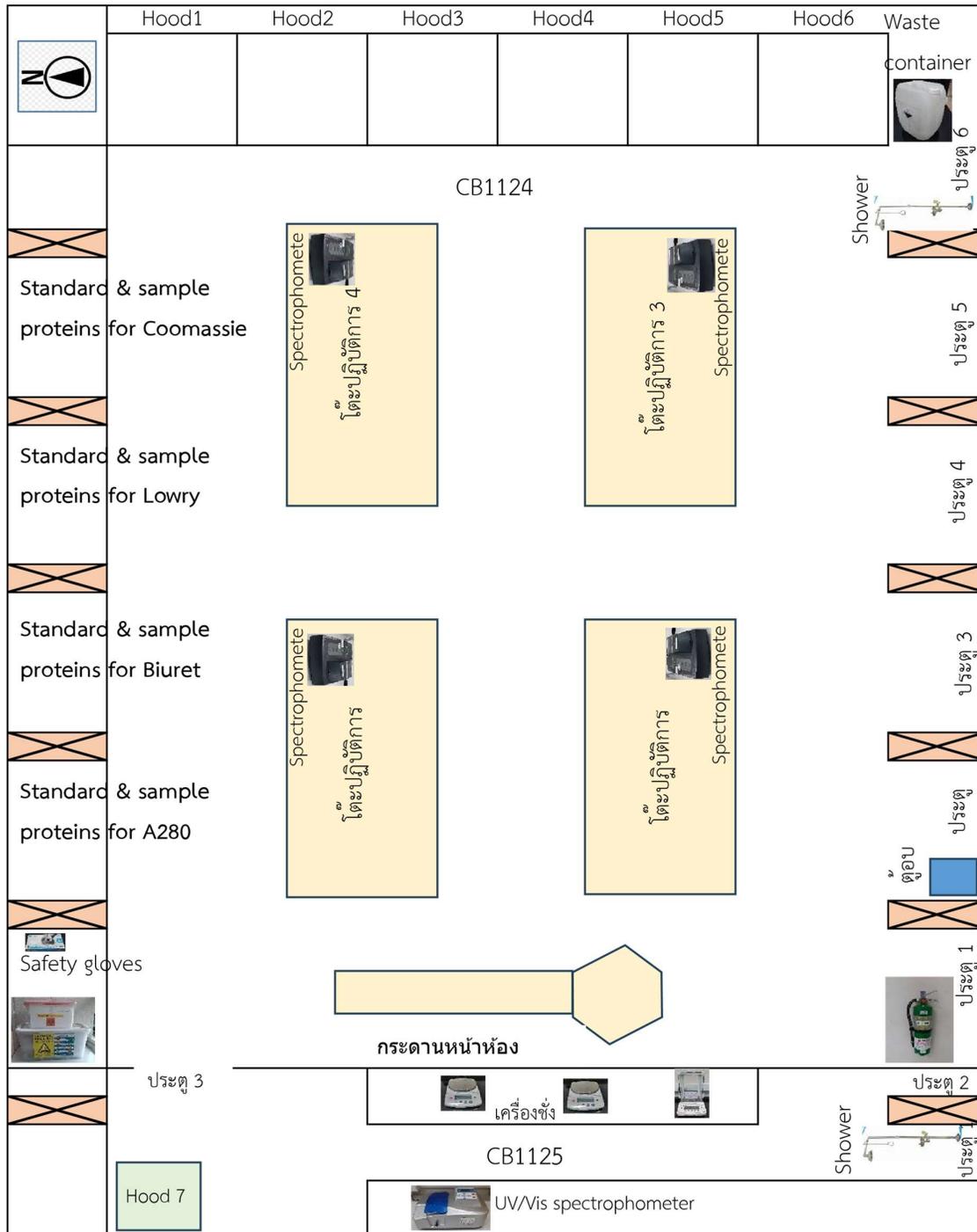
หลังเสร็จสิ้นการทดลอง ต้องจัดการทรัพยากร จัดการของเสีย การทำความสะอาดอุปกรณ์ การจัดเก็บสารเคมีคงเหลือและการตรวจสอบพื้นที่ทำงานอย่างเหมาะสม ดังนี้

- จัดการของเสีย***
- ปิดฝาภาชนะสนิท ตรวจสอบฉลากและวันที่ แยกประเภทตามความอันตราย ได้แก่ "ของเสียโลหะหนัก" และ "ของเสียอันตราย"
 - ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้งที่ต้องจัดการกับของเสีย
- ตรวจสอบสารเคมีคงเหลือ***
- ตรวจสอบสภาพและปริมาณคงเหลือของสารเคมีและรีเอเจนต์ทุกตัว ปิดฝาให้แน่นและเก็บที่อุณหภูมิเหมาะสม
 - ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้งที่ต้องจัดการกับของเสีย
- การตรวจสอบเครื่องมือ อุปกรณ์***
- ตรวจสอบเครื่อง spectrophotometer ปิดเครื่องถอดปลั๊กให้เรียบร้อย
- การจัดการพื้นที่ทำงาน***
- ตรวจสอบความสะอาด คราบสารเคมีบนโต๊ะปฏิบัติการ
 - ตรวจสอบระบบไฟฟ้า ถอดปลั๊กเครื่องใช้ไฟฟ้าให้เรียบร้อย
- สรุปปัญหาและรายงาน**
- บันทึกปัญหาหรือข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลอง
 - ระบุข้อเสนอแนะเพื่อปรับปรุงการทดลองในครั้งต่อไป

หมายเหตุ: * ทำทันที

แผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 5 (โปรตีน 2)

ห้องปฏิบัติการ CB1124 และ CB1125



รูปภาพที่ 18 แสดงแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 5 (โปรตีน 2)

ปฏิบัติการที่ 6

คาร์โบไฮเดรต 1 – การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

1. การเตรียมการก่อนปฏิบัติการ

ในส่วนนี้จะครอบคลุมการเตรียมสารเคมี รีเอเจนต์ทดสอบ และอุปกรณ์ต่างๆดังต่อไปนี้

1.1 สารเคมี/รีเอเจนต์

	ปริมาณ*
Anthrone reagent	≥500 mL
Molisch's reagent	≥100 mL
Seliwanoff's reagent	≥750 mL
Bial's reagent	≥500 mL
Barfoed's reagent	≥750 mL
Fehling solution A และ B อย่างละ	≥200 mL
Benedict's reagent	≥1200 mL
Iodine solution	≥100 mL
คาร์โบไฮเดรตตัวอย่าง (glucose, fructose, sucrose, ribose, xylose, lactose, starch, glycogen) เข้มข้น 0.1%	ชนิดละ ≥400 mL
Sulfuric acid conc.	≥500 mL

หมายเหตุ: * คือ ปริมาณสารที่ต้องเตรียมให้เพียงพอสำหรับ 10 กลุ่ม

1.2 อุปกรณ์

	จำนวน
อุปกรณ์เครื่องแก้วพื้นฐาน	ดูในภาคผนวก ข
อ่างน้ำเดือด	*
นาฬิกาจับเวลา	เตรียมให้เพียงพอ
Personal Protection Equipment (PPE)	เตรียมให้เพียงพอ

หมายเหตุ : * จัดเครื่องมือตามความเหมาะสม

1.3 การเตรียมวัตถุติดและรีเอเจนต์สำหรับการทดลอง

การทดสอบและวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในกระบวนวิชานี้ มีวิธีการเตรียมและข้อควรระวังด้านความปลอดภัย สรุปได้ดังนี้

1.3.1 การเตรียม Anthrone reagent

วิธีเตรียม ละลาย 0.2 g ของ anthrone ใน conc. sulfuric acid ปริมาตร 100 mL กวนด้วยแท่งแก้วจนละลายหมด (อาจใช้เวลา 10-15 นาที) เก็บในขวดแก้วสีชาปิดสนิท ควรเตรียมใหม่ๆ ทุกวัน

ข้อระวัง : ต้องทำในตู้ดูดควัน สวมถุงมือทุกครั้งและระวังการสัมผัสกรดเข้มข้น

1.3.2 การเตรียม Molisch's reagent

วิธีเตรียม ละลาย 10 g ของ α -naphthol ในเอทานอล ปริมาตร 100 mL กวนด้วยแท่งแก้วจนละลายหมด ควรเก็บในขวดสีชา

1.3.3 การเตรียม Seliwanoff's reagent

วิธีเตรียม ละลาย 0.05 g ของ resorcinol ใน conc. hydrochloric acid ปริมาตร 33 mL กวนด้วยแท่งแก้วจนละลายหมด ปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น เก็บในขวดแก้วสีชาปิดสนิท

ข้อระวัง : ต้องทำในตู้ดูดควัน สวมถุงมือทุกครั้งและระวังการสัมผัสกรดเข้มข้น

1.3.4 การเตรียม Bial's reagent

วิธีเตรียม ละลาย 0.3 g ของ orcinol ใน conc. hydrochloric acid ปริมาตร 100 mL คนจนละลายหมด เติม 0.3 mL ของ 10% ferric chloride คนให้เข้ากันและเก็บในขวดแก้วสีชา

ข้อระวัง : ต้องทำในตู้ดูดควัน สวมถุงมือทุกครั้งและระวังการสัมผัสกรดเข้มข้น

1.3.5 การเตรียม Barfoed's reagent

วิธีเตรียม ละลาย 6.7 g ของ copper(II) acetate ในน้ำกลั่น 80 mL จากนั้นเติม 1.0 mL ของ glacial acetic acid ปรับปริมาตรเป็น 100 mL หากมีตะกอนให้ทำการกรองออกและเก็บสารละลายในขวดแก้วสีชา

ข้อระวัง : ต้องทำในตู้ดูดควัน สวมถุงมือทุกครั้งและระวังการสัมผัสกรดเข้มข้น

1.3.6 การเตรียม Fehling's reagent

วิธีเตรียม เตรียมแยกสาร 2 ชนิด คือ สาร A และ B ดังนี้

สาร A : ละลาย 7 g ของ copper sulfate ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL เก็บในขวดแก้วสีชา

สาร B : ละลาย 24 g ของ sodium potassium tartrate (หรือ Rochelle salt) และ 34.6 g ของ potassium hydroxide ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL เก็บในขวดพลาสติก

สำหรับ Fehling's reagent ต้องนำสาร A และ B มาผสมกันสัดส่วน 1:1 ก่อนนำไปทดสอบ

ข้อระวัง : สวมถุงมือทุกครั้งและระวังการสัมผัสเบส

1.3.7 การเตรียม Benedict's reagent

วิธีเตรียม เตรียมบีกเกอร์ขนาด 500 mL ละลาย 173 g ของ sodium citrate และ 100 g ของ sodium carbonate ในน้ำกลั่นปริมาตร 350 mL คนจนละลายหมด ทำการเตรียมบีกเกอร์ขนาด 100 mL แยกอีกใบสำหรับละลาย 17.3 g ของ copper sulfate ในน้ำกลั่น 50 mL จากนั้นค่อยๆ เทสารละลายส่วนนี้ลงในสารละลายแรก พร้อมกวนตลอดเวลา ปรับปริมาตรเป็น 500 mL เก็บในขวดแก้วสีขาปิดสนิท

ข้อระวัง : สวมถุงมือทุกครั้งและระวังการสัมผัสเบส

1.3.8 การเตรียม Iodine solution

วิธีเตรียม ละลาย 2.0 g ของ potassium iodide ในน้ำกลั่นปริมาตร 50 mL เติม 1.0 g ของ Iodine ค่อยๆ กวนจนละลายหมด ปรับปริมาตรเป็น 100 mL เก็บในขวดแก้วสีขา

ข้อระวัง : ต้องทำในตู้ดูดควัน สวมถุงมือทุกครั้งและระวังไอระเหย Iodine

1.3.9 การเตรียมคาร์โบไฮเดรตตัวอย่างความเข้มข้น 0.1%

วิธีเตรียม ละลาย 0.1 g ของ glucose ในน้ำกลั่นปริมาตร 80 mL คนให้ละลายหมด ปรับปริมาตรเป็น 100 mL เก็บในขวดปิดสนิท เตรียมเช่นเดียวกับคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ ได้แก่ fructose, sucrose, ribose, xylose, lactose, starch และ glycogen ตามลำดับ

2. การจัดการระหว่างปฏิบัติการ

ระหว่างปฏิบัติการเป็นขั้นตอนที่สำคัญซึ่งต้องปฏิบัติตามวิธีการทดลองอย่างเคร่งครัด โดยเฉพาะการทดลองที่ต้องใช้น้ำร้อนและสารเคมีอันตราย ในส่วนนี้จะเน้นให้เห็นถึงการจัดการสารเคมีและอุปกรณ์ การควบคุมให้การทดลองดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย และการจัดการของเสียให้ถูกต้อง โดยมีรายละเอียดของขั้นตอนดังนี้

2.1 การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์

การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์ จะทำการจัดวางสารเคมีและอุปกรณ์แยกตามหัวข้อการทดลองต่างๆ ให้ชัดเจน ตามแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมีดังแสดงในรูปภาพที่ 21

2.2 การควบคุมการทดลองให้ดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย

มีรายละเอียดของแต่ละขั้นตอนดังนี้

การทดสอบ Molisch's test	- จัดชุดการทดลองต่างๆ และเขียนป้ายบอกให้ชัดเจน ตามรูปภาพที่ 19
การทดสอบ Anthrone test	
การทดสอบ Bial's test	
	- เจ็มนักศึกษาต้องเติมสารในตู้ดูดควัน สวมถุงมือและระวังการสัมผัสกรด
	- เข้มข้น
	- การทดลองนี้มีการต้มสารละลายในน้ำร้อน เจ็มนักศึกษาให้ระวังน้ำร้อนและไอน้ำร้อน ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง
การทดสอบ Seliwanoff's test	- จัดชุดการทดลองต่างๆ และเขียนป้ายบอกให้ชัดเจน ตามรูปภาพที่ 20
การทดสอบ Barfoed's test	- การทดลองที่มีการต้มสารละลายในน้ำร้อน เจ็มนักศึกษาให้ระวังน้ำ
การทดลอง Benedict's test	- ร้อนและไอน้ำร้อน ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง
การทดสอบ Fehling's test	
การทดสอบ Iodine test	

ข้อแนะนำ: ต้องจัดเตรียมอุปกรณ์ฉุกเฉิน เช่น น้ำล้างตา ชุดปฐมพยาบาล ให้อยู่ในระยะที่เข้าถึงได้ง่ายตลอดการทดลอง

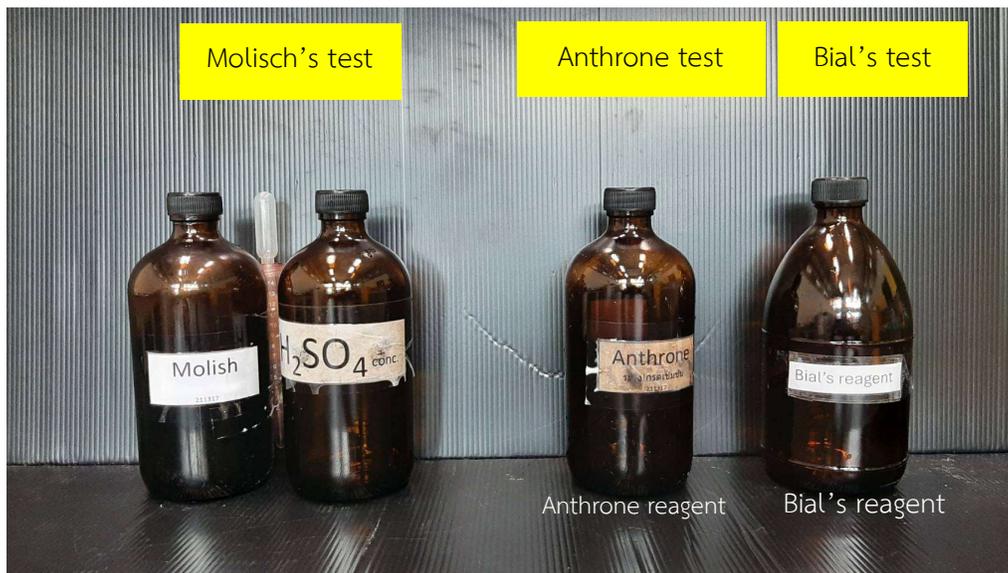
2.3 การจัดการของเสีย

ในส่วนนี้ต้องเตรียมภาชนะสำหรับรองรับของเสียต่างๆ โดยแยกตามประเภทอย่างถูกต้อง เพื่อให้ง่ายต่อการจัดการและกำจัดอย่างเหมาะสม นอกจากนี้ภาชนะทุกใบต้องติดฉลากให้ชัดเจนและเจ็มนักศึกษาให้ทราบถึงตำแหน่งที่วางภาชนะรองรับของเสีย ดังตารางนี้

ตารางที่ 7 การจัดการของเสียของปฏิบัติการที่ 6 (คาร์โบไฮเดรต 1)

ประเภทของของเสีย	แหล่งที่มา	การจัดการ
1. ของเสียชนิดกรด (Acidic waste)	- สารละลาย Molisch, Seliwanoff และ Anthrone	- เตรียมภาชนะทนกรด เขียนฉลากให้ชัดเจน
2. ของเสียโลหะหนัก (Heavy metal waste)	Cu ²⁺ จากสารละลาย Benedict, Fehling และ Barfoed Fe ³⁺ จาก Bial's reagent	- เตรียมภาชนะใส่ “ของเสียโลหะหนัก” เขียนฉลากให้ชัดเจน

ประเภทของของเสีย	แหล่งที่มา	การจัดการ
3. ของเสียชนิดเสียฮาโลเจน	- Iodine solution	- เตรียมภาชนะใส่ "ของเสียฮาโลเจน" เขียนฉลากให้ชัดเจน



รูปภาพที่ 19 แสดงการจัดชุดการทดสอบ Molisch, Anthrone และ Bial ตามลำดับ



รูปภาพที่ 20 แสดงการจัดชุดการทดสอบ Benedict, Fehling, Barfoed, Seliwanoff และ Iodine ตามลำดับ

3. การจัดการหลังปฏิบัติการ

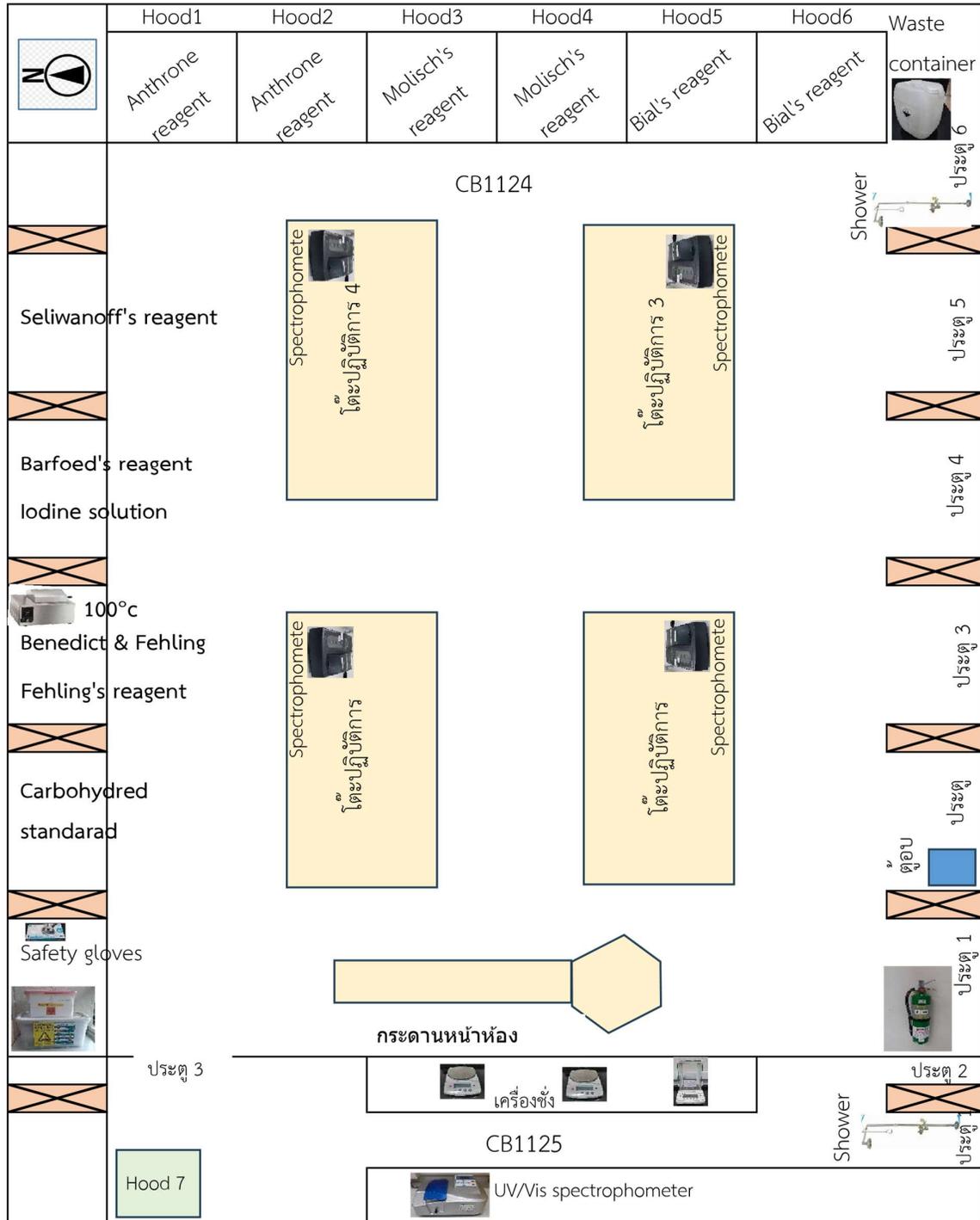
เมื่อสิ้นสุดการทดลอง การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์หลังการทดลองเป็นขั้นตอนสำคัญอีกขั้นตอนหนึ่งที่จะช่วยรักษาความปลอดภัยและลดความเสี่ยงจากอุบัติเหตุและข้อผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งต้องจัดการอย่างระมัดระวังหลังเสร็จสิ้นการทดลอง ในส่วนนี้จะมีรายละเอียดเกี่ยวกับการจัดการสารเคมีและอุปกรณ์หลังการทดลอง เพื่อให้การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย

- | | |
|----------------------------------|--|
| การจัดการของเสีย* | - ตรวจสอบภาชนะและฝาปิดให้สนิท
- ระวังไอกรด ควรสวมชุด PPE ทุกครั้ง |
| การจัดการสารเคมีที่เหลือ* | - ตรวจสอบปริมาณสารที่เหลือและจัดเก็บในที่ที่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิ แสง |
| อ่างน้ำร้อน* | - เช็กระดับน้ำไม่ให้แห้ง ปิดเครื่องถอดปลั๊กให้เรียบร้อย |
| การจัดการพื้นที่ทำงาน* | - ตรวจสอบความสะอาด คราบสารเคมีบนโต๊ะปฏิบัติการ
- ตรวจสอบระบบไฟฟ้า ถอดปลั๊กเครื่องใช้ไฟฟ้าให้เรียบร้อย |
| สรุปปัญหาและรายงาน | - บันทึกปัญหาหรือข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลอง
- รายงานให้อาจารย์หรือผู้ดูแลทราบ |

หมายเหตุ: * ทำทันที

แผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 6 (คาร์โบไฮเดรต 1)

ห้องปฏิบัติการ CB1124 และ CB1125



รูปภาพที่ 21 แผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 6 (คาร์โบไฮเดรต 1)

ปฏิบัติการที่ 7

คาร์โบไฮเดรต 2 – การวิเคราะห์หาปริมาณและการแยก

1. การเตรียมการก่อนปฏิบัติการ

ในส่วนนี้จะครอบคลุมการเตรียมสารเคมี รีเอเจนต์ทดสอบและอุปกรณ์ต่างๆ โดยต้องคำนึงถึงปริมาณสารเคมีที่ต้องเตรียมให้เพียงพอ ดังนี้

1.1 สารเคมี/รีเอเจนต์

	ปริมาณ*
5 mM glucose	≥500 mL
สารละลายน้ำตาลตัวอย่าง (สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ)	≥100 mL
DNS reagent	≥600 mL
2% น้ำตาลมาตรฐาน สำหรับ TLC ได้แก่ glucose, fructose, sucrose, lactose และ maltose	เตรียมให้เพียงพอ
Mobile phase สำหรับ TLC (Butanol:ethanol:water, 5:3:2 (v/v))	≥500 mL
TLC Stain (0.5% Thymol ใน 5% sulfuric acid ในเอทานอล)	≥300 mL

หมายเหตุ: * คือ ปริมาณสารที่ต้องเตรียมให้เพียงพอสำหรับ 10 กลุ่ม

1.2 อุปกรณ์

	จำนวน*
อุปกรณ์เครื่องแก้วพื้นฐาน	ดูในภาคผนวก ข
Capillary tubes สำหรับหยดสารตัวอย่าง	≥300 อัน
แผ่น TLC (ขนาด 10 x 10 cm)	1 แผ่น/กลุ่ม
TLC chamber	เตรียมให้เพียงพอ
ขวดสเปรย์ใส่ TLC stain	เตรียมให้เพียงพอ
เครื่องเป่าลมร้อน	เตรียมให้เพียงพอ
Spectrophotometer พร้อม cuvette	*
ตู้อบ 100°C	*
อ่างน้ำเดือด	*
Personal Protection Equipment (PPE)	เตรียมให้เพียงพอ

หมายเหตุ : * จัดเครื่องมือตามความเหมาะสม

1.3 การเตรียมวัตถุดิบและรีเอเจนต์สำหรับการทดลอง

วัตถุดิบและรีเอเจนต์สำหรับการวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตในบรณนี้ มีวิธีการเตรียมดังนี้

1.3.1 การเตรียม DNS reagent

วิธีเตรียม แบ่งการเตรียมเป็น 2 ส่วน

ส่วนที่ 1) ละลาย 2.5 g ของ 3,5-dinitrosalicylic acid ใน 1 M sodium hydroxide (sodium hydroxide 4 g ในน้ำ 100 mL) ปริมาตร 100 mL อุ้และคนให้ละลาย

ส่วนที่ 2) ละลาย 75 g ของ sodium potassium tartrate ในน้ำ 125 mL คนให้ละลาย จากนั้นนำสารละลายทั้งสองส่วนผสมกัน แล้วปรับปริมาตรเป็น 500 mL ด้วยน้ำกลั่น เก็บในขวดสีชาปิดฝาให้แน่น

ข้อระวัง : สวมถุงมือทุกครั้งและระวังการสัมผัสเบส

1.3.2 การเตรียม TLC stain

วิธีเตรียม ทำการละลาย 0.5 g ของ thymol ใน 100 mL ของ 5% sulfuric acid ในเอทานอล (เตรียมโดย เติม 5 mL ของ conc. sulfuric acid ลงใน 100 mL ของเอทานอล) นำสารละลายที่ได้ใส่ในขวดสเปรย์

ข้อระวัง : ต้องทำในตู้ดูดควัน สวมถุงมือทุกครั้งและระวังกรดเข้มข้น

1.3.3 การเตรียม Mobile phase สำหรับ TLC

วิธีเตรียม ผสมตัวทำละลายต่างๆ คือ butanol:ethanol:water (สัดส่วน 5:3:2 v/v) ปริมาตร 500:300:200 mL ตามลำดับ เก็บในขวดแก้วปิดฝาให้แน่น

ข้อระวัง : ต้องทำในตู้ดูดควัน สวมถุงมือทุกครั้งและระวังไอระเหยของตัวทำละลาย

1.3.4 การเตรียมน้ำตาลมาตรฐานความเข้มข้น 2%

วิธีเตรียม ละลาย 0.2 g ของ glucose ในน้ำกลั่นปริมาตร 8 mL คนให้ละลายหมด ปรับปริมาตรเป็น 10 mL เก็บในขวดปิดสนิท เตรียมเช่นเดียวกับคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ ได้แก่ glucose, fructose, sucrose, lactose และ maltose ตามลำดับ

1.3.5 การเตรียม 5 mM glucose

วิธีเตรียม ละลาย 0.49 g ของ D(+)-glucose-1-hydrate (MW:198.17) ในน้ำกลั่นเล็กน้อย จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 500 mL เก็บในขวดปิดฝาให้แน่น

1.3.6 การเตรียมสารละลายน้ำตาลตัวอย่าง

วิธีเตรียม เจือจางสารละลาย 5 mM glucose ให้มีความเข้มข้นในช่วง 2-4 mM

2. การจัดการระหว่างปฏิบัติการ

การจัดการระหว่างปฏิบัติการเป็นขั้นตอนที่ต้องควบคุมอย่างใกล้ชิดเพื่อให้การทดลองเป็นไปตามแผน และมีความปลอดภัย สรุปเป็นขั้นตอนต่างๆดังนี้

2.1 การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์

การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์ จะทำการจัดวางสารเคมีและอุปกรณ์แยกตามหัวข้อการทดลองต่างๆ ให้ชัดเจน ตามแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมีดังแสดงในรูปภาพที่ 24

2.2 การควบคุมการทดลองให้ดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย

มีรายละเอียดของแต่ละขั้นตอนดังนี้

- | | |
|---|--|
| <p>การทดลองที่ 1: การวิเคราะห์หาปริมาณ glucose โดยวิธี DNS</p> | <ul style="list-style-type: none"> - จัดชุดการทดลองต่างๆ และเขียนป้ายบอกให้ชัดเจน ตามรูปภาพที่ 22 - การทดลองนี้มีการต้มสารละลายในน้ำร้อน เจ้าหน้าที่ศึกษาให้ระวังน้ำร้อนและไอน้ำร้อน ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง |
| <p>การทดลองที่ 2: การแยกสารผสมคาร์โบไฮเดรตโดย TLC</p> | <ul style="list-style-type: none"> - จัดชุดการทดลองต่างๆ และเขียนป้ายบอกให้ชัดเจน ตามรูปภาพที่ 23 - เจ้าหน้าที่ศึกษาระวังการใช้ capillary tubes ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง และเน้นย้ำเรื่อง capillary tubes ที่ใช้แล้วไม่ควรนำกลับมาใช้ซ้ำ - ขั้นตอนการสเปรย์ TLC Stain และการเป่าให้แห้งต้องทำงานในตู้ดูดควันเพื่อลดอันตรายจากการสูดดมไอสารตัวทำละลาย - เจ้าหน้าที่ศึกษาให้ระวังความร้อนขณะนำ TLC เข้า/ออกจากตู้อบ 100°C |

ข้อแนะนำ: ต้องจัดเตรียมอุปกรณ์ฉุกเฉิน เช่น น้ำล้างตา ชุดปฐมพยาบาล ให้อยู่ในระยะที่เข้าถึงได้ง่ายตลอดการทดลอง



รูปภาพที่ 22 แสดงการจัดชุดสารเคมีของการวิเคราะห์หาปริมาณ glucose โดยวิธี DNS



รูปภาพที่ 23 แสดงการจัดชุดสารเคมีของการทดลองการแยกสารผสมคาร์โบไฮเดรตโดย TLC

2.3 การจัดการของเสีย

ในส่วนนี้ต้องเตรียมภาชนะสำหรับรองรับของเสียต่างๆ โดยแยกตามประเภทอย่างถูกต้อง เพื่อให้ง่ายต่อการจัดการและกำจัดอย่างเหมาะสม นอกจากนี้ภาชนะทุกใบต้องติดฉลากให้ชัดเจนและแจ้งนักศึกษาให้ทราบถึงตำแหน่งที่วางภาชนะรองรับของเสีย ดังตารางนี้

ตารางที่ 8 การจัดการของเสียของปฏิบัติการที่ 7 (คาร์โบไฮเดรต 2)

ประเภทของของเสีย	แหล่งที่มา	การจัดการ
1. ของเสียตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic waste)	- รวมตัวทำละลาย TLC	- เก็บในภาชนะที่ปิดสนิทและทนสารเคมี - ติดป้ายระบุให้ชัดเจน "ของเสียตัวทำละลายอินทรีย์"
2. ของเสียชนิดของแข็ง (Solid waste)	- แผ่น TLC ใช้แล้ว	- “ของเสียชนิดของแข็ง” และ “ของเสียชนิดเศษแก้วแตก”
3. ของเสียชนิดเศษแก้วแตก (Glass waste)	- Capillary tube ที่ใช้แล้ว	- รอดำเนินการส่งหน่วยงานจัดการของเสียอันตราย

3. การจัดการหลังปฏิบัติการ

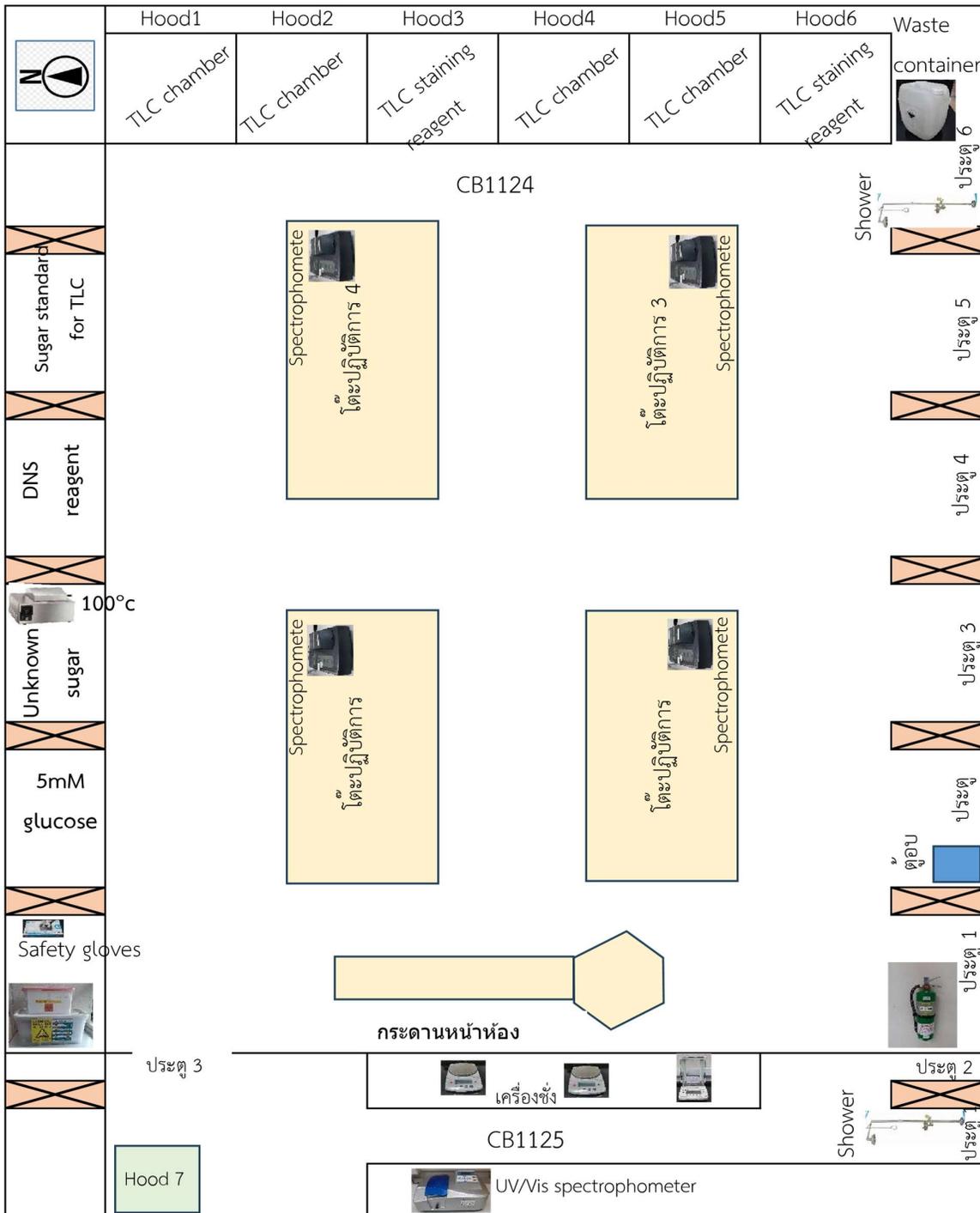
การจัดการหลังปฏิบัติการ เป็นขั้นตอนสุดท้ายที่สำคัญไม่น้อยไปกว่าขั้นตอนอื่นๆ เนื่องจากเกี่ยวข้องกับการทำความสะอาด การจัดเก็บ และการกำจัดของเสียอย่างถูกต้อง

การจัดการของเสีย*	- ตรวจสอบในภาชนะ ป้ายระบุชื่อและ วันที่และปิดให้สนิท - รวบรวมตัวทำละลาย TLC เป็นชนิด “ของเสียตัวทำละลายอินทรีย์” ระวังไอกรด ควรสวมชุด PPE ทุกครั้ง - เก็บรวบรวมแผ่น TLC และ Capillary tube ที่ใช้แล้ว เป็นของเสียอันตราย
การตรวจสอบสารเคมีที่เหลือ*	- ตรวจสอบสารละลาย 5 mM glucose สารตัวอย่างและน้ำตาลมาตรฐาน เก็บในตู้เย็น 4 °C
ตรวจสอบอุปกรณ์และเครื่องมือ*	- ตรวจสอบ Spectrophotometer ตู้อบ เครื่องเป่าลมร้อน ปิดสวิตช์ ถอดปลั๊ก ให้เรียบร้อย
การจัดการพื้นที่ทำงาน*	- ทำความสะอาดและ ตรวจสอบคราบสารเคมีบนโต๊ะทดลอง
สรุปปัญหาและรายงาน	- บันทึกปัญหาหรือข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลอง - รายงานให้อาจารย์หรือผู้ดูแลทราบ

หมายเหตุ: * ทำทันที

แผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 7 (คาร์โบไฮเดรต 2)

ห้องปฏิบัติการ CB1124 และ CB1125



รูปภาพที่ 24 แสดงแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 7 (คาร์โบไฮเดรต 2)

ปฏิบัติการที่ 8

ลิพิด

1. การเตรียมการก่อนปฏิบัติการ

การเตรียมตัวอย่างและอุปกรณ์ก่อนเริ่มการทดลองเป็นขั้นตอนสำคัญที่จะช่วยให้การปฏิบัติงานเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย ในส่วนนี้จะครอบคลุมการคำนวณปริมาณสารเคมีที่ต้องใช้ การจัดเตรียมอุปกรณ์เฉพาะสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Thin-Layer chromatography (TLC) และการสกัดลิพิดจากไข่แดง รวมถึงข้อควรระวังในการจัดการสารเคมีอันตราย เช่น chloroform นอกจากนี้ยังมีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน ซึ่งต้องคำนึงถึงความเข้มข้นเหมาะสม

1.1 สารเคมี/รีเอเจนต์

	ปริมาณ*
สารสกัดไข่แดง	≈ 60-90 mL
สารละลายลิพิดมาตรฐาน 6 ชนิด (ดูในวิธีการเตรียม)	ชนิดละ 10 mL
Mobile phase สำหรับ TLC	≥2,000 mL
Zak reagent	≥280 mL
Standard cholesterol	≥120 mL
สารละลาย phosphate stain	≥400 mL
Iodine granules	≥100 g

หมายเหตุ : * คือ ปริมาณสารที่ต้องเตรียมให้เพียงพอสำหรับ 10 กลุ่ม

1.2 อุปกรณ์

	จำนวน
อุปกรณ์เครื่องแก้วพื้นฐาน	ดูในภาคผนวก ข
หลอดแคปิลลารี (capillary tube)	≥300 อัน
แผ่น TLC (10 x 10 cm)	1 แผ่น/กลุ่ม
TLC chamber	เตรียมให้เพียงพอ

เครื่องเป่าลมร้อน	เตรียมให้เพียงพอ
Phosphate stain spray	อย่างน้อย 1 อัน
Iodine chamber	อย่างน้อย 1 อัน
Spectrophotometer พร้อม cuvette	*
ตู้อบ 100°C	*
Personal Protection Equipment (PPE)	เตรียมให้เพียงพอ

หมายเหตุ : * จัดเครื่องมือตามความเหมาะสม

1.3 การเตรียมวัตถุดิบและรีเอเจนต์สำหรับการทดลอง

การเตรียมวัตถุดิบและรีเอเจนต์สำหรับการทดสอบและวิเคราะห์ปริมาณลิพิดในกระบวนวิชานี้ พร้อมข้อควรระวังด้านความปลอดภัย เป็นดังนี้

1.3.1 การเตรียมสารสกัดลิพิดจากไข่แดง

วิธีเตรียม โดยใช้ไข่แดงต้มสุก 5 กรัม ผสมกับตัวทำละลาย chloroform:methanol (1:1) ปริมาตร 25 mL เขย่าแรงๆ เป็นเวลา 15 นาที เพื่อละลายลิพิด แล้วกรองแยกกากไข่แดงออกทิ้งไปด้วยผ้าขาวบาง ส่วนของสารละลายนำไประเหย จนแห้งในอ่างน้ำร้อน 60°C จากนั้นทำการสกัดลิพิดซ้ำ 2 ครั้ง ด้วยตัวทำละลายผสม chloroform:methanol (2:1) ปริมาตร 10 mL รวมสารละลายที่ได้ใส่ลงใน separating funnel แล้วเติมน้ำ 10 mL เขย่าแล้วรอให้แยกชั้น จากนั้นนำชั้นสารละลายอินทรีย์ (ชั้นล่าง) ตามรูปภาพที่ 25 มาเติม anhydrous sodium sulphate เพื่อดูดความชื้น เก็บสารสกัดที่ได้ไปทำการทดลองต่อไป

1.3.2 การเตรียม Zak reagent

ใช้วิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol ในตัวอย่างชีวภาพ โดยจะได้สารประกอบสีม่วงแดงที่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ 560 nm มีวิธีเตรียมดังนี้

วิธีเตรียม ละลาย 0.83 g ของ ferric chloride ใน 85% phosphoric acid ปริมาตร 65 mL คนให้ละลายหมด ทำการปรับปริมาตรเป็น 500 mL ด้วย conc. sulfuric acid

ข้อระวัง : ต้องทำในตู้ดูดควัน สวมถุงมือ หน้ากากป้องกันไอระเหยและระวังการสัมผัสกรดเข้มข้น

1.3.3 การเตรียม phosphate stain reagent

ใช้ตรวจสอบลิพิดที่มีหมู่ฟอสเฟต (เช่น phosphor lipid) บนแผ่น TLC โดยให้จุดเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน มีวิธีเตรียมดังนี้

วิธีเตรียม ละลาย 2 g ของ ammonium molybdate และ 0.2 g ของ EDTA ในตัวทำละลายผสม 70% perchloric acid : hydrochloric acid (9:1.7) ปริมาตร 10.7 mL จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เป็น 200 mL

ข้อระวัง : ต้องทำในตู้ดูดควัน สวมถุงมือ หน้ากากป้องกันไอระเหยและระวังการสัมผัสกรดเข้มข้น

1.3.4 การเตรียมไอโอดีนไอโอดีน

ใช้วิเคราะห์ลิพิดโดย iodine (I₂) จะทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ในกรดไขมันไม่อิ่มตัว เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล-เหลือง ที่มองเห็นได้ชัดบนแผ่น TLC มีวิธีเตรียมดังนี้

วิธีเตรียม เติม iodine granules ปริมาณที่มากพอลงในไอโอดีนที่มีฝาปิดสนิทล่วงหน้า 1-2 ชั่วโมง

ข้อระวัง : ต้องทำในตู้ดูดควัน สวมถุงมือ หน้ากากป้องกันไอระเหยและระวังการสัมผัส iodine granules

1.3.5 การเตรียม mobile phase สำหรับ TLC

วิธีเตรียม ผสมสาร hexane:diethyl ether:acetic acid สัดส่วน 80:20:1 โดยตวงสารต่างๆ ปริมาตร 800, 200 และ 10 mL ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันเก็บใส่ขวดแก้วที่มีฝาปิดมิดชิด

ข้อระวัง : ต้องทำในตู้ดูดควัน สวมถุงมือและหน้ากากป้องกันไอระเหย

1.3.6 การเตรียมสารละลายลิพิดมาตรฐาน

วิธีเตรียม ละลายสารลิพิดมาตรฐาน ได้แก่ (1) cholesterol (2) palmitic acid (3) linoleic acid (4) stearic acid (5) oleic acid และ (6) lecithin แต่ละชนิด 40 mg ละลายใน chloroform ปริมาตร 10 mL ผสมให้เข้ากันเก็บใส่ขวดแก้วที่มีฝาปิดมิดชิด

1.3.7 การเตรียมสารละลายโคเลสเตอรอลมาตรฐาน

วิธีเตรียม ละลาย 0.010 g ของ cholesterol ในเอทานอล ปริมาตร 100 mL จะได้สารละลายเข้มข้น 100 µg/mL



รูปภาพที่ 25 แสดงการสกัดลิพิดจากไข่แดง

2. การจัดการระหว่างปฏิบัติการ

ระหว่างปฏิบัติการเป็นขั้นตอนที่สำคัญซึ่งต้องปฏิบัติตามวิธีการทดลองอย่างเคร่งครัด โดยเฉพาะการทดลองที่ต้องใช้น้ำร้อนและสารเคมีอันตราย ในส่วนนี้จะเน้นให้เห็นถึงการจัดการสารเคมีและอุปกรณ์ การควบคุมให้การทดลองดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย และการจัดการของเสียให้ถูกต้อง โดยมีรายละเอียดของขั้นตอนดังนี้

2.1 การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์

การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์ จะทำการจัดวางสารเคมีและอุปกรณ์แยกตามหัวข้อการทดลองต่างๆ ให้ชัดเจน ตามแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมีดังแสดงในรูปภาพที่ 28

2.2 การควบคุมการทดลองให้ดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย

มีรายละเอียดของแต่ละขั้นตอนดังนี้

- การทดลองที่ 1 : การสกัดลิพิด จากไข่แดง**
- สวม PPE (ถุงมือยาง/แว่นตา) เมื่อใช้คลอโรฟอร์มและเมทานอล
 - ทำงานในตู้ดูดควัน ระวังการสูดดมสารพิษระเหยตัวทำลาย
- การทดลองที่ 2 : การแยกและวิเคราะห์ลิพิดในไข่แดงด้วย TLC**
- จัดชุดการทดลองต่างๆ และเขียนป้ายบอกให้ชัดเจน ตามรูปภาพที่ 26
 - แจ้งนักศึกษาห้ามใช้มือสัมผัสผิวแผ่น TLC ต้องใส่ถุงมือทุกครั้ง
 - แจ้งนักศึกษา iodine เป็นอันตราย ต้องใช้ในตู้ดูดควันเสมอ
 - การพ่น phosphate stain ต้องสวม PPE และทำในตู้ดูดควัน
 - แจ้งนักศึกษา ระวังความร้อนจากการอบตู้อบ 100°C
- การทดลองที่ 3 : การวิเคราะห์หาปริมาณโคเลสเตอรอลด้วย Zak reagent**
- แจ้งนักศึกษาระวัง Zak reagent มีกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ใส่ถุงมือทุกครั้งและทำงานเติมสารในตู้ดูดควันเท่านั้น

ข้อแนะนำ: ต้องจัดเตรียมอุปกรณ์ฉุกเฉิน เช่น น้ำล้างตา ชุดปฐมพยาบาล ให้อยู่ในระยะเวลาที่เข้าถึงได้ง่ายตลอดการทดลอง



รูปภาพที่ 26 แสดงการจัดชุดสารสำหรับการแยกและวิเคราะห์ลิพิดในไข่แดงด้วย TLC



รูปภาพที่ 27 แสดงการจัดชุดสารสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณโคเลสเตอรอลด้วย Zak reagent

2.3 การจัดการของเสีย

ในส่วนนี้ต้องเตรียมภาชนะสำหรับรองรับของเสียต่างๆ โดยแยกตามประเภทอย่างถูกต้อง เพื่อให้ง่ายต่อการจัดการและกำจัดอย่างเหมาะสม นอกจากนี้ภาชนะทุกใบต้องติดฉลากให้ชัดเจนและแจ้งนักศึกษาให้ทราบถึงตำแหน่งที่วางภาชนะรองรับของเสีย ดังตารางนี้

ตารางที่ 9 การจัดการของเสียของปฏิบัติการที่ 8 (ลิพิด)

ประเภทของของเสีย	แหล่งที่มา	การจัดการ
1. ของเสียชนิดกรด (Acidic waste)	- Zak reagent	- เก็บในภาชนะที่ปิดสนิทและทนสารเคมี ติดป้ายระบุให้ชัดเจน "ของเสียตัวทำละลายอินทรีย์"
2. ของเสียตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic waste)	- mobile phase ของ TLC	"ของเสียชนิดของแข็ง" และ "ของเสียชนิดเศษแก้วแตก" และรอดำเนินการส่งหน่วยงานจัดการของเสียอันตราย
3. ของเสียชนิดเศษแก้วแตก (Glass waste)	- Capillary tube ที่ใช้แล้ว	

3. การจัดการหลังปฏิบัติการ

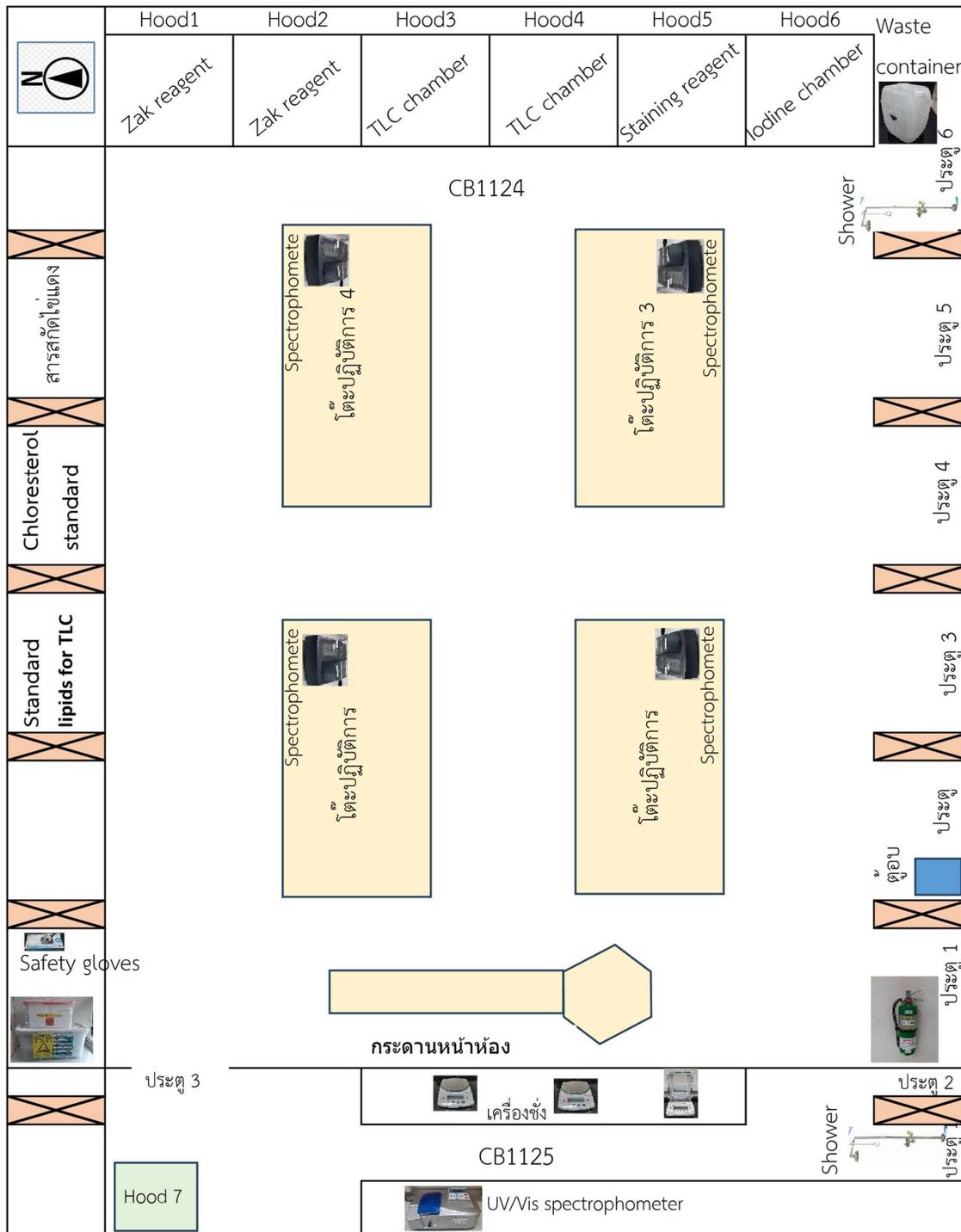
หลังเสร็จสิ้นการทดลอง การจัดการอุปกรณ์ สารเคมี และของเสียเป็นขั้นตอนที่ไม่ควรละเลย ส่วนนี้ครอบคลุมการทำความสะอาดอุปกรณ์ การจัดเก็บสารเคมีที่เหลือใช้อย่างเหมาะสม การตรวจสอบสภาพเครื่องมือวัด และการรวบรวมของเสียอันตรายเพื่อส่งกำจัดโดยหน่วยงานที่รับผิดชอบ นอกจากนี้ยังรวมถึงการประเมินข้อผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นเพื่อนำไปปรับปรุงในการทดลองครั้งต่อไป

- | | |
|--|--|
| การจัดการของเสีย* | <ul style="list-style-type: none"> - ตรวจสอบขวดและปิดฝาภาชนะบรรจุของเสียให้สนิท - รวบรวม Capillary tube และแผ่น TLC ที่ใช้แล้วเป็นของเสีย รวบรวมกำจัด สวม PPE ทุกครั้งที่ดำเนินการกับของเสีย |
| การตรวจสอบสารเคมีที่เหลือ* | <ul style="list-style-type: none"> - สารละลาย Zak reagent ที่ใช้ไม่หมดและสารมาตรฐาน ปิดฝาให้สนิท และเก็บในขวดแก้วสีชา |
| ตรวจสอบอุปกรณ์และเครื่องมือ* | <ul style="list-style-type: none"> - ตรวจสอบตู้อบ เครื่องเป่าลมร้อน Spectrophotometer ปิดสวิทช์ ถอดปลั๊ก ให้เรียบร้อย |
| การจัดการพื้นที่ทำงาน*
สรุปปัญหาและรายงาน | <ul style="list-style-type: none"> - ตรวจสอบความสะอาดและ ตรวจสอบคราบสารเคมีบนโต๊ะทดลอง - บันทึกปัญหาหรือข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลอง - รายงานให้อาจารย์หรือผู้ดูแลทราบ |

หมายเหตุ: * ทำทันที

แผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 8 (ลิปิด)

ห้องปฏิบัติการ CB1124 และ CB1125



รูปภาพที่ 28 แสดงแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 8 (ลิปิด)

ปฏิบัติการที่ 9

เอนไซม์ 1 – การทำงานของเอนไซม์

1. การเตรียมการก่อนปฏิบัติการ

ในส่วนนี้จะครอบคลุมการเตรียมสารเคมีการทดสอบต่างๆ และอุปกรณ์ที่จำเป็น โดยต้องคำนึงถึงปริมาณสารเคมีที่ต้องเตรียมให้เพียงพอ ดังนี้

1.1 สารเคมี/รีเอเจนต์

	ปริมาณ*
0.2 M sodium acetate buffer pH 4.5	≥250 mL
1% yeast suspension	≥250 mL
1% sucrose	≥250 mL
Fehling solution A และ B อย่างละ	≥50 mL
1% potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$)	≥30 mL
0.1% catechol	≥1000 mL
0.1% resorcinol	≥400 mL
0.1% hydroquinone	≥400 mL
0.1 M buffer pH 4-8 (เตรียมแต่ละ pH)	≥100 mL
สารสกัดเอนไซม์จากมันฝรั่ง	≥1000 mL

หมายเหตุ: * คือ ปริมาณสารที่ต้องเตรียมให้เพียงพอสำหรับ 10 กลุ่ม

1.2 อุปกรณ์

	จำนวน
อุปกรณ์เครื่องแก้วพื้นฐาน	ดูในภาคผนวก ข
อ่างน้ำเดือด	เตรียมให้เพียงพอ
อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 0 °C, 25 °C, 37 °C, 70 °C	เตรียมให้เพียงพอ
Parafilm	เตรียมให้เพียงพอ
Personal Protection Equipment (PPE)	เตรียมให้เพียงพอ

1.3 การเตรียมวัตถุดิบและรีเอเจนต์สำหรับการทดลอง

ในการทดลองนี้มีการเตรียมวัตถุดิบและรีเอเจนต์ต่างๆ ดังนี้

1.3.1 การเตรียมสารสกัดเอนไซม์จากมันฝรั่ง

สารสกัดมันฝรั่งในการทดลองนี้ใช้เป็นแหล่งเอนไซม์ออกซิเดส (Oxidase) สำหรับการทดสอบคุณสมบัติต่างๆของเอนไซม์ ดังนี้

วิธีเตรียม หั่นมันฝรั่งเป็นชิ้นเล็กๆ ปริมาณ 100 g เติมน้ำกลั่น 1000 mL นำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ ทำการกรองกากมันฝรั่งออกด้วยผ้าขาวบาง ตั้งสารสกัดทิ้งไว้ 15 – 20 นาที รอให้แบ่งตกตะกอน จากนั้นนำส่วนใสไปทำการทดลองขั้นตอนต่อไป

หมายเหตุ: ควรเตรียมใหม่ทุกครั้ง และเตรียมก่อนการใช้งานไม่เกิน 1 ชั่วโมง

1.3.2 การเตรียม yeast suspension

การเตรียมสารละลายยีสต์ในการทดลองนี้ใช้เป็นแหล่ง invertase สำหรับการทดสอบคุณสมบัติของเอนไซม์ ดังนี้

วิธีเตรียม yeast suspension ความเข้มข้น 1 % โดยละลาย 1 g ของ Baker yeast ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL ใช้แท่งแก้วคนให้ yeast กระจายตัวให้ทั่วแล้วเก็บในขวดพลาสติก

1.3.3 การเตรียมสารละลาย sucrose

วิธีเตรียม สารละลาย sucrose ความเข้มข้น 1 % โดยละลาย 1 g ของ sucrose ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL ใช้แท่งแก้วคนให้ละลายแล้วเก็บในขวดแก้วสีชา

1.3.4 การเตรียมสารละลาย potassium dichromate

วิธีเตรียม สารละลาย potassium dichromate ความเข้มข้น 1 % โดยละลาย 1 g ของ potassium dichromate ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL ใช้แท่งแก้วคนให้ละลายแล้วเก็บในขวดแก้วสีชา

1.3.5 การเตรียมสารละลาย catechol

วิธีเตรียม สารละลาย catechol ความเข้มข้น 0.1% โดยละลาย 1 g ของ catechol ในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 mL ใช้แท่งแก้วคนให้ละลายแล้วเก็บในขวดแก้วสีชา

1.3.6 การเตรียมสารละลาย resorcinol

วิธีเตรียม สารละลาย resorcinol ความเข้มข้น 0.1% โดยละลาย 0.4 g ของ resorcinol ในน้ำกลั่น ปริมาตร 400 mL ใช้แท่งแก้วคนให้ละลายแล้วเก็บในขวดพลาสติก

1.3.7 การเตรียมสารละลาย hydroquinone

วิธีเตรียม สารละลาย hydroquinone ความเข้มข้น 0.1 % โดยละลาย 0.4 g ของ hydroquinone ในน้ำกลั่นปริมาตร 400 mL ใช้แท่งแก้วคนให้ละลายแล้วเก็บในขวดพลาสติก

1.3.8 การเตรียม Fehling solution ดูวิธีเตรียมในปฏิบัติการที่ 6 เรื่องคาร์โบไฮเดรต 1 – การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

1.3.9 การเตรียม 0.2 M sodium acetate buffer pH 4.5 และ 0.1 M buffer pH 4-8 ดูวิธีเตรียมในภาคผนวก ก

2. การจัดการระหว่างปฏิบัติการ

ระหว่างปฏิบัติการเป็นขั้นตอนที่สำคัญซึ่งต้องปฏิบัติตามวิธีการทดลองอย่างเคร่งครัด โดยเฉพาะการทดลองที่ต้องใช้น้ำร้อนและสารเคมีอันตราย ในส่วนนี้จะเน้นให้เห็นถึงการจัดการสารเคมีและอุปกรณ์ การควบคุมให้การทดลองดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย และการจัดการของเสียให้ถูกต้อง โดยมีรายละเอียดของขั้นตอนดังนี้

2.1 การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์

การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์ ทำการจัดวางสารเคมีและอุปกรณ์แยกตามหัวข้อการทดลองต่างๆ ให้ชัดเจน ตามแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมีดังแสดงในรูปภาพที่ 32

2.2 การควบคุมการทดลองให้ดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย

มีรายละเอียดของแต่ละขั้นตอนดังนี้

1. ทดสอบเอนไซม์อินเวอร์เทส - จัดชุดการทดลองต่างๆ และเขียนป้ายบอกให้ชัดเจน ตามรูปภาพที่ 29
 ในยีสต์ - การทดลองนี้มีการต้มสารละลายในน้ำร้อน แจ้งนักศึกษาให้ระวังน้ำร้อน และไอน้ำร้อน ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง
2. ทดสอบเอนไซม์ออกซิเดส - จัดชุดการทดลองต่างๆ และเขียนป้ายบอกให้ชัดเจน ตามรูปภาพที่ 30
 ในมันฝรั่ง - ระวังสารละลาย potassium dichromate เป็นสารพิษ แจ้งนักศึกษาระวัง ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง

3. ทดสอบความจำเพาะของ เอนไซม์ออกซิเดส - จัดชุดการทดลองต่างๆ และเขียนป้ายบอกให้ชัดเจน ตามรูปภาพที่ 31
4. ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงาน เอนไซม์ออกซิเดส - แจ้งนักศึกษาให้ระวังน้ำร้อนและไอน้ำร้อน ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง
4. ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงาน เอนไซม์ออกซิเดส - แจ้งนักศึกษาให้ระวังน้ำร้อนและไอน้ำร้อน ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกัน ทุกครั้ง

2.3 การจัดการของเสีย

ในส่วนนี้ต้องเตรียมภาชนะสำหรับรองรับของเสียต่างๆ โดยแยกตามประเภทอย่างถูกต้อง เพื่อให้ง่ายต่อการจัดการและกำจัดอย่างเหมาะสม ตัดฉลากให้ชัดเจนและแจ้งนักศึกษาให้ทราบถึงตำแหน่งที่วางภาชนะรองรับของเสีย ดังนี้

ตารางที่ 10 การจัดการของเสียของปฏิบัติการที่ 9 (เอนไซม์ 1)

ประเภทของเสีย	แหล่งที่มา	วิธีการจัดการ
1. ของเสียโลหะหนัก (Heavy metal waste)	- สารละลาย 1% $K_2Cr_2O_7$	- เก็บในภาชนะที่ปิดสนิทและทนสารเคมี - ติดป้ายระบุ "ของเสียโลหะหนัก" - รอดำเนินการส่งกำจัดจัดการของเสีย



รูปภาพที่ 29 แสดงการจัดชุดสารเคมีทดสอบ invertase เทสในยีสต์



รูปภาพที่ 30 แสดงการจัดชุดสารเคมีทดสอบ oxidase ในมันฝรั่ง



รูปภาพที่ 31 แสดงการจัดชุดสารเคมีทดสอบความจำเพาะของ oxidase

3. การจัดการหลังปฏิบัติการ

การจัดการหลังปฏิบัติการเป็นขั้นตอนที่ไม่ควรมองข้าม เนื่องจากเกี่ยวข้องกับการจัดการสารเคมีที่ใช้แล้ว อุปกรณ์ที่ปนเปื้อน และการทำความสะอาดพื้นที่ รวมทั้งการจัดเก็บของเสียอย่างถูกต้อง เพื่อให้พร้อมสำหรับการทดลองครั้งต่อไป ซึ่งการจัดการหลังปฏิบัติการที่ดีจะช่วยรักษาสภาพแวดล้อมในห้องปฏิบัติการให้พร้อมสำหรับการทดลองครั้งต่อไป และมีความปลอดภัยของผู้ใช้งานอีกด้วย

- | | |
|--------------------------------------|---|
| จัดการของเสีย* | - ปิดฝาภาชนะสนิท ตรวจสอบฉลากและวันที่ แยกประเภทตามความอันตราย ได้แก่ "ของเสียโลหะหนัก" |
| | - ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้งที่ต้องจัดการกับของเสีย |
| ตรวจสอบสารเคมีคงเหลือ* | - ตรวจสอบสภาพและปริมาณคงเหลือของสารเคมีและรีเอเจนต์ทุกตัว ปิดฝาให้แน่นและเก็บที่อุณหภูมิเหมาะสม |
| | - ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้งที่ต้องจัดการกับของเสีย |
| การตรวจสอบเครื่องมือ อุปกรณ์* | - อ่างน้ำร้อน ตรวจสอบระดับน้ำไม่ให้แห้ง ปิดเครื่องถอดปลั๊กให้เรียบร้อย |
| การจัดการพื้นที่ทำงาน* | - ตรวจสอบความสะอาด คราบสารเคมีบนโต๊ะปฏิบัติการ |
| | - ตรวจสอบระบบไฟฟ้า ถอดปลั๊กเครื่องใช้ไฟฟ้าให้เรียบร้อย |
| สรุปปัญหาและรายงาน | - บันทึกปัญหาหรือข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลอง |
| | - ระบุข้อเสนอแนะเพื่อปรับปรุงการทดลองในครั้งต่อไป |

หมายเหตุ: * ทำทันที

ปฏิบัติการที่ 10

เอนไซม์ 2 – จลนพลศาสตร์ของเอนไซม์

1. การเตรียมการก่อนปฏิบัติการ

ในส่วนนี้ต้องเตรียมสารเคมีสำหรับการทดสอบต่างๆ และอุปกรณ์ที่จำเป็น โดยต้องคำนึงถึงปริมาณสารเคมีที่ต้องเตรียมให้เพียงพอ ดังนี้

1.1 สารเคมี/รีเอเจนต์

	ปริมาณ*
1-3 mg/mL α -amylase*	≥ 150 mL
2% แป้งมัน	≥ 500 mL
0.01 M phosphate buffer pH 6.8	≥ 500 mL
DNS reagent	≥ 400 mL

หมายเหตุ: * คือ ปริมาณสารที่ต้องเตรียมให้เพียงพอสำหรับ 10 กลุ่ม

1.2 อุปกรณ์

	จำนวน
อุปกรณ์เครื่องแก้วพื้นฐาน	ดูในภาคผนวก ข
ปิเปต ขนาด 1 mL (เพิ่มเติม)	เตรียมให้เพียงพอ
Spectrophotometer	*
อ่างน้ำเดือด	*
Vortex mixer	เตรียมให้เพียงพอ
นาฬิกาจับเวลา	เตรียมให้เพียงพอ
Personal Protection Equipment (PPE)	เตรียมให้เพียงพอ

หมายเหตุ : * จัดเครื่องมือตามความเหมาะสม

1.3 การเตรียมวัตถุดิบและรีเอเจนต์สำหรับการทดลอง

ในการทดลองนี้มีการเตรียมวัตถุดิบและรีเอเจนต์ต่างๆ ดังนี้

1.3.1 การเตรียมสารละลาย α -amylase

วิธีเตรียม ละลาย 0.1-0.3 g ของ α -amylase ในน้ำกลั่นปริมาตร ≈ 80 mL ใช้แท่งแก้วคนให้ละลาย แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 mL เก็บในขวดแก้วสีชา

หมายเหตุ: ควรเตรียมใหม่ทุกครั้ง

1.3.2 การเตรียมสารละลายแป้งมัน

วิธีเตรียม นำละลายแป้งมัน ปริมาณ 2 g ในน้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อย (≈ 20 mL) เติมน้ำร้อนปริมาณ 50-60 mL คนด้วยแท่งแก้วให้แป้งละลายจนได้สารละลายใส จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น

หมายเหตุ: ควรเตรียมใหม่ทุกครั้ง

1.3.3 การเตรียม 0.01 M phosphate buffer pH 6.8 ดูวิธีเตรียมในภาคผนวก ก

1.3.4 การเตรียม DNS reagent ดูวิธีเตรียมในบทที่การทดสอบคาร์โบไฮเดรต

2. การจัดการระหว่างปฏิบัติการ

ระหว่างปฏิบัติการเป็นขั้นตอนที่สำคัญซึ่งต้องปฏิบัติตามวิธีการทดลองอย่างเคร่งครัด โดยเฉพาะการทดลองที่ต้องใช้น้ำร้อนและสารเคมีอันตราย ในส่วนนี้จะเน้นให้เห็นถึงการจัดการสารเคมีและอุปกรณ์ การควบคุมให้การทดลองดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย และการจัดการของเสียให้ถูกต้อง โดยมีรายละเอียดของขั้นตอนดังนี้

2.1 การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์

การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์ ทำการจัดวางสารเคมีและอุปกรณ์แยกตามหัวข้อการทดลองต่างๆ ให้ชัดเจน ตามแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมีดังแสดงในรูปภาพที่ 34

2.2 การควบคุมการทดลองให้ดำเนินไปตามขั้นตอนอย่างถูกต้องและปลอดภัย

มีรายละเอียดของแต่ละขั้นตอนดังนี้

การทดลองที่ 1 อิทธิพลของความเข้มข้นของสับสเตรต

การจัดการสารเคมีและอุปกรณ์ - จัดชุดการทดลองต่างๆ และเขียนป้ายบอกให้ชัดเจน ตามรูปภาพที่ 33
- การทดลองนี้มีการต้มสารละลายในน้ำร้อน เจ้าหน้าที่ศึกษาให้ระวังน้ำร้อนและไอน้ำร้อน ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้ง

การรับมือเหตุฉุกเฉิน

- ตั้งค่า spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 540 nm
- ตรวจสอบอุปกรณ์ความปลอดภัย ถุงมือ แวนตานิรภัยให้พร้อม



รูปภาพที่ 33 แสดงการจัดชุดการทดลองที่ 1 อิทธิพลของความเข้มข้นของสับสเตรต

2.3 การจัดการของเสีย

ในส่วนนี้ต้องเตรียมภาชนะสำหรับรองรับของเสียจาก DNS reagent โดยแยกตามประเภทของเสีย ชนิด ของเสียที่เป็นพิษ (Toxic waste) ตัดฉลากให้ชัดเจนและแจ้งนักศึกษาให้ทราบถึงตำแหน่งที่วางภาชนะรองรับของเสีย

3. การจัดการหลังปฏิบัติการ

การจัดการของเสียหลังปฏิบัติการเป็นขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับการจัดการสารเคมีที่ใช้แล้ว อุปกรณ์ที่ปนเปื้อน และการทำความสะอาดพื้นที่ รวมทั้งการจับเก็บของเสียอย่างถูกต้อง เพื่อให้พร้อมสำหรับการทดลองครั้งต่อไปและมีความปลอดภัยของผู้ใช้งานดังนี้

จัดการของเสีย*

- ปิดฝาภาชนะสนิท ตรวจสอบฉลากและวันที่ แยกประเภทตามความอันตราย ได้แก่ "ของเสียที่เป็นพิษ"
- ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้งที่ต้องจัดการกับของเสีย

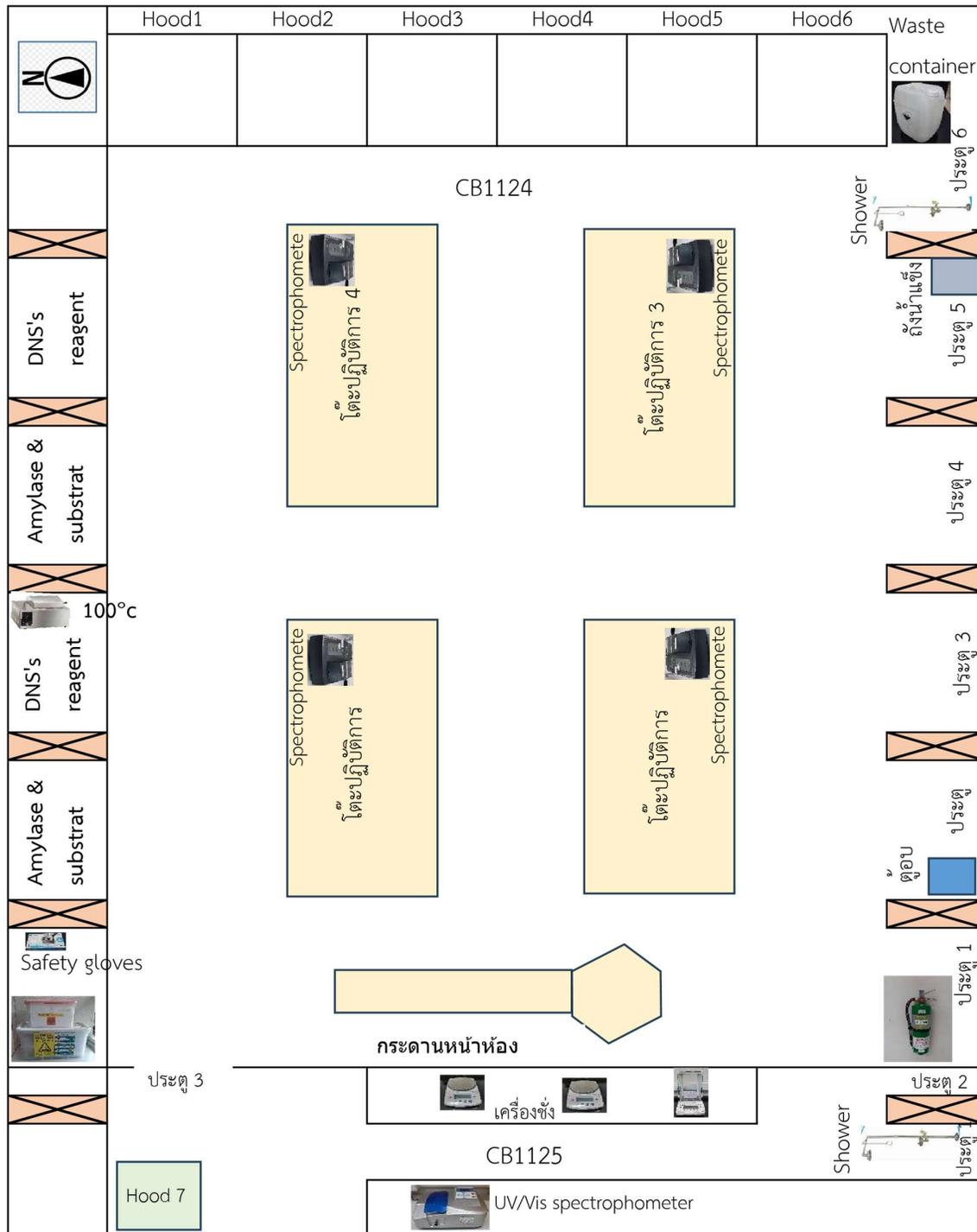
ตรวจสอบสารเคมีคงเหลือ*

- ตรวจสอบสภาพและปริมาณคงเหลือของสารเคมีและรีเอเจนต์ทุกตัว ปิดฝาให้แน่นและเก็บที่อุณหภูมิเหมาะสม

- ต้องสวมถุงมือและแว่นตาป้องกันทุกครั้งที่ต้องจัดการกับของเสีย
 - การตรวจสอบเครื่องมือ อุปกรณ์* - อ่างน้ำร้อน ตรวจสอบระดับน้ำไม่ให้แห้ง ปิดเครื่องถอดปลั๊กให้เรียบร้อย
 - การจัดการพื้นที่ทำงาน* - ตรวจสอบความสะอาด คราบสารเคมีบนโต๊ะปฏิบัติการ
 - ตรวจสอบระบบไฟฟ้า ถอดปลั๊กเครื่องใช้ไฟฟ้าให้เรียบร้อย
 - สรุปปัญหาและรายงาน - บันทึกปัญหาหรือข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลอง
 - ระบุข้อเสนอแนะเพื่อปรับปรุงการทดลองในครั้งต่อไป
- หมายเหตุ: * ทำทันที

แผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 10 (เอนไซม์ 2)

ห้องปฏิบัติการ CB1124 และ CB1125



รูปภาพที่ 34 แสดงแผนผังการจัดวางอุปกรณ์และสารเคมี ปฏิบัติการที่ 10 (เอนไซม์ 2)

บทที่ 5

ปัญหาอุปสรรค แนวทางแก้ไขและพัฒนา

บทนี้ได้รวบรวมปัญหาอุปสรรคหลักที่พบในห้องปฏิบัติการชีวเคมี พร้อมทั้งเสนอแนวทางแก้ไขและพัฒนาอย่างเป็นระบบ โดยแบ่งเป็น 4 หมวดหมู่หลัก ได้แก่

- 1) ด้านการเตรียมสารเคมีและอุปกรณ์
- 2) ด้านความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ
- 3) ด้านการจัดการระหว่างปฏิบัติการ
- 4) ด้านการจัดการหลังปฏิบัติการ

ซึ่งแต่ละส่วนจะนำเสนอปัญหาและแนวทางแก้ไขที่ชัดเจน เพื่อให้ห้องปฏิบัติการสามารถดำเนินงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ตารางที่ 11 สรุปปัญหาอุปสรรค แนวทางแก้ไขและพัฒนา

ปัญหาอุปสรรค	แนวทางแก้ไขและพัฒนา
<p>1. ด้านการเตรียมสารเคมีและอุปกรณ์:</p> <ul style="list-style-type: none"> - ปริมาณสารเคมีไม่เพียงพอ - สารเคมีหรือรีเอเจนต์บางชนิดเสื่อมสภาพเร็ว เช่น Anthrone reagent - อุปกรณ์มีจำนวนจำกัด เช่น เครื่องชั่ง, Spectrophotometer 	<p>การเตรียมสารเคมี:</p> <ul style="list-style-type: none"> - ต้องคำนวณปริมาณโดยเผื่ออาจจะมากถึง 300% เพื่อไม่ให้เกิดเสียเวลาระหว่างรอการเตรียมสารใหม่ - สารเคมีหรือรีเอเจนต์ต้องเตรียมใหม่ในวันทดลอง และจัดเก็บสารอย่างถูกต้อง เช่น เก็บในขวดสีชาและอุณหภูมิที่เหมาะสม เพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพ <p>การจัดการปัญหาอุปกรณ์ไม่เพียงพอ:</p> <ul style="list-style-type: none"> - ตรวจสอบสภาพการใช้งานให้พร้อม ให้นักศึกษาจัดลำดับการเข้าใช้งานอย่างเป็นระบบและเป็นระเบียบ และวางแผนจัดหาเพิ่มเติมให้เพียงพอกับการใช้งาน

ปัญหาอุปสรรค	แนวทางแก้ไขและพัฒนา
	<ul style="list-style-type: none"> - บำรุงรักษาเครื่องมือตามคู่มือการใช้งานเป็นประจำ
<p>2. ด้านความปลอดภัย:</p> <ul style="list-style-type: none"> - การใช้สารเคมีอันตราย เช่น กรดเข้มข้น (conc. sulfuric acid), สารตะกั่ว (lead acetate) และสารออกซิไดซ์ (potassium dichromate) เสี่ยงต่อการเกิดอุบัติเหตุ - การจัดการของเสียอันตรายไม่ถูกต้อง 	<p>วิธีการป้องกัน:</p> <ul style="list-style-type: none"> - เน้นย้ำการสวม PPE ได้แก่ ถุงมือ, แว่นตา, เสื้อคลุม - ต้องให้มือบรมความปลอดภัยก่อนเข้าทำปฏิบัติการ - ห้องปฏิบัติการต้องมี SDS (Safety Data Sheet) ที่สืบค้นได้ง่าย <p>การจัดการของเสีย:</p> <ul style="list-style-type: none"> - จัดภาชนะบรรจุแยกตามประเภทของเสีย เช่น ของเสียโลหะหนัก และติดป้ายให้ชัดเจน - ทำการบันทึกข้อมูลในระบบบันทึกปริมาณของเสีย เพื่อรอกำจัดอย่างถูกต้อง
<p>3. ด้านการจัดการระหว่างปฏิบัติการ:</p> <ul style="list-style-type: none"> - นักศึกษาใช้เครื่องมือผิดวิธี เช่น การปิเปตผิด การไม่ทำสมดุลหลอดก่อนการเซ็นตริฟิว 	<p>การควบคุมกระบวนการ:</p> <ul style="list-style-type: none"> - จัดเตรียมคู่มือฉบับย่อพร้อมขั้นตอนและข้อควรระวังไว้ใกล้กับเครื่องมืออื่นๆ - ดูแลและตรวจสอบการทำงานของนักศึกษาอย่างใกล้ชิด - เปิดรับคำติชมจากนักศึกษาเพื่อนำมาปรับปรุงวิธีการสอนและขั้นตอนการทดลอง
<p>4. ด้านการจัดการหลังปฏิบัติการ:</p> <ul style="list-style-type: none"> - ทำความสะอาดอุปกรณ์ไม่ทั่วถึง เช่น cuvette, graduate pipette ทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ง่าย - บันทึกข้อมูลไม่ครบถ้วน ทำให้การประเมินผล 	<p>การทำความสะอาด:</p> <ul style="list-style-type: none"> - กำหนดขั้นตอนทำความสะอาดอุปกรณ์ให้ชัดเจน และตรวจสอบสภาพก่อนเก็บเพื่อให้มั่นใจว่าอุปกรณ์ยังอยู่ในสภาพพร้อมใช้งาน

ปัญหาอุปสรรค	แนวทางแก้ไขและพัฒนา
และการปรับปรุงการทดลองครั้งต่อไปทำได้ยาก	- พัฒนาแบบฟอร์มบันทึกผลออนไลน์ให้ครอบคลุมและสรุปปัญหาประจำสัปดาห์เพื่อการปรับปรุงอย่างมีประสิทธิภาพ

สรุป การพัฒนาห้องปฏิบัติการชีวเคมีให้มีประสิทธิภาพและปลอดภัยต้องอาศัยการวางแผนอย่างเป็นระบบ ทั้งในด้านการเตรียมการ จัดการระหว่างการทดลอง และการสรุปผลหลังการทดลอง โดยเน้นการแก้ไขปัญหที่เกิดขึ้นอย่างเป็นระบบ และนำเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้เพื่อช่วยในการบริหารจัดการทรัพยากร สนับสนุนการเรียนการสอนและการวิจัยให้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารอ้างอิง

1. สุวรรณ ชัยประเสริฐ. (2562). *เทคนิคพื้นฐานในห้องปฏิบัติการชีวเคมี*. เชียงใหม่: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
2. วิชัย ดวงสวัสดิ์. (2561). *การทดลองทางชีวเคมี: หลักการและปฏิบัติการ*. กรุงเทพฯ: ซีเอ็ดดูเคชั่น.
3. ชลิตา วัฒนโชติ. (2564). *การดูแลและปรับเทียบเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ*. กรุงเทพฯ: เอ็มเอ็ดดูเคชั่น.
4. กรมวิทยาศาสตร์บริการ. (2560). *คู่มือความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์*. กรุงเทพฯ: กรมวิทยาศาสตร์บริการ.
5. Lehninger, A. L., Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2017). *Principles of Biochemistry* (7th ed.). W.H. Freeman.
6. Harris, D. C. (2016). *Quantitative Chemical Analysis* (9th ed.). W.H. Freeman.
7. Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3rd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
8. Green, M. R., & Sambrook, J. (2017). *Isolation and Quantification of DNA*. Cold Spring Harbor Protocols.
9. Berg, J. M., Tymoczko, J. L., & Gatto, G. J. (2015). *Biochemistry* (8th ed.). W.H. Freeman.
10. Lodish, H., et al. (2016). *Molecular Cell Biology* (8th ed.). W.H. Freeman.
11. Furr, A. K. (2000). *CRC Handbook of Laboratory Safety* (5th ed.). CRC Press.
12. U.S. Environmental Protection Agency (EPA). (1994). *Laboratory Waste Management: A Guide for Safe Disposal Practices*. Washington, DC: EPA Office of Solid Waste.
13. Robyt, J. F., & White, B. J. (1990). *Biochemical Techniques: Theory and Practice*. Waveland Press.
14. Christie, W. W., & Han, X. (2010). *Lipid Analysis: Isolation, Separation, Identification and Lipidomic Analysis* (4th ed.). The Oily Press.
15. **Starcher, B. (2001).** "A Ninhydrin-Based Assay to Quantitate the Total Protein Content of Tissue Samples" *Analytical Biochemistry*, 292(1), 125-129.

ภาคผนวก ก

ชนิดบัฟเฟอร์และวิธีการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

1. ชนิดของบัฟเฟอร์ต่างๆ ที่ใช้ในปฏิบัติการวิชาชีวเคมีพื้นฐาน

บัฟเฟอร์เป็นสารละลายที่ทำหน้าที่รักษาระดับค่า pH ของระบบให้คงที่ แม้ว่าจะมีการเติมกรดหรือเบสลงไปปริมาณเล็กน้อยก็ตาม ในกระบวนการปฏิบัติการนี้ มีการใช้บัฟเฟอร์หลากหลายชนิดเพื่อวัตถุประสงค์ที่แตกต่างกัน ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งในการควบคุมสภาพแวดล้อมทางชีวเคมีของสารตัวอย่าง เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิก และเอนไซม์ ซึ่งบัฟเฟอร์ที่ใช้ในปฏิบัติการนี้พอสรุปได้ดังนี้

ตารางที่ 12 สรุปชนิดบัฟเฟอร์ที่ใช้ในกระบวนการปฏิบัติการ 211317

ชนิดบัฟเฟอร์	ความเข้มข้น	pH	การใช้งาน
Standard pH buffer	-	4, 7, 10	การทดลองที่ 1
Sodium acetate buffer	0.1 M	5.0	การทดลองที่ 4
Sodium acetate buffer	0.2 M	4.5	การทดลองที่ 9
Sodium acetate buffer	0.1 M	4, 5	การทดลองที่ 9
Phosphate buffer	0.1 M	6, 7	
Tris- HCl buffer	0.1 M	8	
Phosphate buffer	0.01 M	6.8	การทดลองที่ 10
Homogenization buffer	-	-	การทดลองที่ 2
TE buffer	10 mM EDTA/50 mM Tris	8.0	การทดลองที่ 2
Borate buffer	0.05 M	8.5	การทดลองที่ 3

2. การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

2.1 วิธีเตรียม acetate buffer

มีขั้นตอนการเตรียม ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1: การเตรียมสารละลายสต็อกเข้มข้น

1. การเตรียมสารละลายสต็อกเข้มข้น 0.1 M และ 0.2 M acetic acid

วิธีเตรียม ตวง acetic acid glacial (MW=60.05 g/mol) ปริมาตร 5.71 mL และ 11.42 mL ละลายในน้ำกลั่นอย่างละ 1000 mL ใช้แท่งแก้วคน จะได้สารละลายสต็อกเข้มข้น 0.1 M และ 0.2 M acetic acid ตามลำดับ ให้เก็บที่อุณหภูมิห้อง

2. การเตรียมสารละลายสต็อกเข้มข้น 0.1 M และ 0.2 M sodium acetate

วิธีเตรียม ละลาย 13.6 g และ 27.2 g ของ sodium acetate (MW=136.08 g/mol) ในน้ำกลั่นอย่างละ 1000 mL ใช้แท่งแก้วคนให้ละลาย จะได้สารละลายสต็อกเข้มข้น 0.1 M และ 0.2 M sodium acetate ตามลำดับ ให้เก็บที่อุณหภูมิห้อง

ขั้นตอนที่ 2: เตรียมสารละลาย acetate buffer

คือการนำสารละลายสต็อกเข้มข้นมาผสมกันให้ได้สารละลายบัฟเฟอร์ตามต้องการ ตามตารางดังนี้

ตารางที่ 13 การเตรียมสารละลาย acetate buffer ที่ความเข้มข้นและ pH ต่างๆ

pH ที่ต้องการ	ความเข้มข้น (M)	ปริมาณสารละลายสต็อกเข้มข้นที่ใช้ (mL)		ปรับปริมาตร (L)
		0.1 M acetic acid	0.1 M sodium acetate	
4	0.1	850	150	1
5	0.1	645	355	1
		0.2 M acetic acid	0.2 M sodium acetate	
4.5	0.2	355	645	1

หมายเหตุ: เก็บที่อุณหภูมิห้อง

2.2 วิธีเตรียม 0.1 M phosphate buffer

มีขั้นตอนการเตรียม ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1: การเตรียมสารละลายสต็อกเข้มข้น

1. การเตรียมสารละลายสต็อกเข้มข้น 0.1 M sodium dihydrogen phosphate

วิธีเตรียม ละลาย 12.0 g ของ sodium dihydrogen phosphate (MW = 119.98 g/mol) ในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

2. เตรียม 0.1 M disodium hydrogen phosphate

วิธีเตรียม ละลาย 14.2 g ของ disodium hydrogen phosphate (MW = 141.96 g/mol) ในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

ขั้นตอนที่ 2: เตรียมสารละลาย 0.1 M phosphate buffer

ผสมสารละลายสต็อกเข้มข้นทั้ง 2 ชนิด เพื่อให้ได้สารละลาย 0.1 M phosphate buffer pH ต่างๆ ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 14 การเตรียมสารละลาย 0.1 M phosphate buffer ที่ pH ต่างๆ

pH ที่ต้องการ	0.1 M sodium dihydrogen phosphate (mL)	0.1 M disodium hydrogen phosphate (mL)	ปรับปริมาตร (L)
6.0	870	130	1
6.8	500	500	1
7.0	390	610	1

หมายเหตุ: เก็บที่อุณหภูมิห้อง

2.3 วิธีเตรียม 0.1 M Tris-HCl buffer pH 8.0

วิธีเตรียม ละลาย 12.11 g ของ Tris-base (MW = 121.14 g/mol) ในน้ำกลั่น ~800 mL ปรับ pH ด้วยการหยด 1 M hydrochloric acid ที่ละน้อยจนได้ pH 8.0 เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวม 1 ลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง

2.4 วิธีเตรียม Homogenization buffer สำหรับสกัดกรดนิวคลีอิก

วิธีเตรียม ชั่งสารเคมีตามตารางที่ 15 ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 2 L

ตารางที่ 15 ส่วนประกอบของ homogenization buffer

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้
Sodium dodecyl sulfate (SDS)	100 g
Sodium chloride	17.54 g
Sodium citrate	8.82 g
Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)	0.584 g

หมายเหตุ : เก็บที่อุณหภูมิห้องหรือที่ 4°C สำหรับการใช้งานระยะยาว

2.5 วิธีเตรียม TE buffer (Tris-EDTA buffer) สำหรับการเก็บรักษา DNA/RNA

ใช้เป็นบัฟเฟอร์สำหรับละลายหรือเก็บรักษาตัวอย่างกรดนิวคลีอิก (DNA/RNA) โดย Tris ทำหน้าที่รักษา pH ให้คงที่ ส่วน EDTA ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNase/RNase

วิธีเตรียม ละลาย 3.722 g ของ EDTA disodium salt ในน้ำกลั่น ~800 mL และชั่ง 6.057 ของ Tris base ในสารละลาย EDTA ข้างต้น ปรับ pH เป็น 8.0 ด้วยกรด/เบสเจือจาง จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บที่อุณหภูมิห้อง

2.6 วิธีเตรียม 0.05 M borate buffer pH 8.5

วิธีเตรียม ละลาย 19.07 g ของ sodium borate (MW = 381.37 g/mol) และ 3.09 g ของ boric acid (MW = 61.83 g/mol) ในน้ำกลั่น ~800 mL ปรับ pH เป็น 8.5 ด้วยกรด/เบสเจือจาง จากนั้นปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1 ลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง

ภาคผนวก ข

อุปกรณ์เครื่องแก้วพื้นฐาน

รายการ	ขนาด	จำนวน	หมายเหตุ
Beaker	400 หรือ 600 mL อย่างละ	2	
Beaker	50,100,250 mL อย่างละ	4	
Cylinder	10,100 mL อย่างละ	2	
Dropper		4	
Erlenmeyer flask	50,100,250 mL อย่างละ	4	
Glass funnel		2	
Glass stirrer		4	
Pipette (graduated)	1 mL	4	
	5, 10 mL อย่างละ	2	
Spatula		4	
Test tube	16x150 mm	~ 50	
Wash bottle		2	
ลูกยางสีส้ม		4	
Plastic rack		5	

ประวัติผู้เขียน

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ - นามสกุล นายพรชัย จันตา

ที่อยู่ 262/54 หมู่ 2 ต.หางดง อ.หางดง จ.เชียงใหม่ 50230

เบอร์โทร 0832093442

อีเมล pornchai.junta@cmu.ac.th

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2553 ปริญญาโท บัณฑิตวิทยาลัย (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

พ.ศ. 2540 ปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์ (ชีวเคมีและชีวเคมีเทคโนโลยี) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

พ.ศ. 2536 มัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนแม่ระมาดวิทยาคม

พ.ศ. 2533 มัธยมศึกษาปีที่ 3 โรงเรียนแม่ระมาดวิทยาคม

พ.ศ. 2530 ประถมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนบ้านแม่จะเราสองแคว

ประวัติการทำงาน พศ. 2542 – ปัจจุบัน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ผลงาน การอบรม

1. อบรมความปลอดภัยทางชีวภาพและการรักษาความปลอดภัยทางชีวภาพ
2. อบรมหลักสูตรเจ้าหน้าที่ความปลอดภัยในการทำงาน (จป.) ระดับหัวหน้างาน
3. เจ้าหน้าที่ความปลอดภัยทางรังสี (Radiation Safety Officer, RSO) ระดับต้น ประเภทวัสดุกัมตรังสี (วัสดุกัมตรังสีประเภทที่ 5 เฉพาะชนิดปิดผนึก)
4. ผู้ร่วมวิจัย เรื่อง โครงการวิจัยการทำลำไยอบแห้งโดยวิธี Freeze-drying (2547)
5. งานวิจัยเรื่อง TiO₂-UV Photocatalytic Degradation of Coomassie Brilliant Blue R 250 in Wastewater. Special Issue on the Pure and Applied Chemistry International Conference 2008.