

บริษัท นอร์ธเทิร์น ฟู้ด คอมเพล็กซ์ จำกัด

วิธีการปฏิบัติงาน	เรื่อง: วิธีการวัดค่า Protease Activity	หน้า 1 ของ 4
รหัสเอกสาร: WI-QC-38	วันที่ประกาศใช้: 27 ตุลาคม 2543	แก้ไขครั้งที่: 00
จัดทำโดย:	ทบทวนและอนุมัติโดย:	
ผู้ช่วยหัวหน้าแผนกควบคุมคุณภาพ	หัวหน้าแผนกควบคุมคุณภาพ	

1. ผู้ปฏิบัติงาน พนักงานควบคุมคุณภาพ
2. คำนิยาม Protease Activity หมายถึง การวัดการทำงานของเอนไซม์ Protease ที่สร้างขึ้น
โดยเชื้อรา *Aspergillus oryzae* ในโคจิ

3. สารเคมีที่ใช้

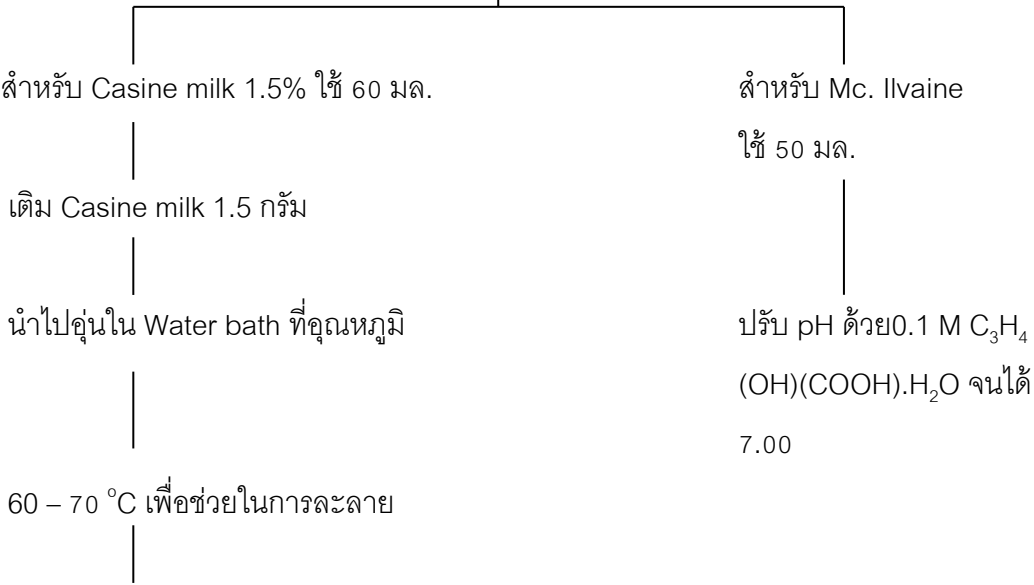
- 3.1 Casine milk 1.5%
- 3.2 0.1 M $C_3H_4(OH)(COOH).H_2O$
- 3.3 0.2 M $Na_2HPO_4.12H_2O$
- 3.4 Mc. ilvaine
- 3.5 0.4 M CCl_3COOH
- 3.6 0.55 M Na_2CO_3
- 3.7 Forline reagent

4. ขั้นตอน

4.1 การเตรียมสารเคมี

- 4.1.1 Casine milk 1.5%

เทสาร 0.2 M $Na_2HPO_4.12H_2O$ ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มล. จำนวน 2 บีกเกอร์
เพื่อแยกใช้เป็น Casine milk และ Mc. Ilvaine



บริษัท นอร์ธเทิร์น ฟู้ด คอมเพล็กซ์ จำกัด

วิธีการปฏิบัติงาน	เรื่อง: วิธีการวัดค่า Protease Activity	หน้า 2 ของ 4
รหัสเอกสาร: WI-QC-38	วันที่ประกาศใช้: 27 ตุลาคม 2543	แก้ไขครั้งที่: 00

ปรับ pH ด้วย 0.1 M C₃H₄(OH)(COOH).H₂O

ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มล.ด้วย

Mc. Ilvaine ที่ปรับ pH แล้ว

ปิดทับสารละลายด้วย Toluene

เก็บในอุณหภูมิ 5 °C ห้ามเกิน 1 สัปดาห์

4.1.2 0.1 M C₃H₄(OH)(COOH).H₂O

4.1.2.1 ชั่งสาร C₃H₄(OH)(COOH).H₂O มา 5.25 กรัม ใส่ลงในปิកเกอร์ขนาด 100 มล.

4.1.2.2 ค่อยๆละลายลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มล.

4.1.2.3 ปรับปริมาตรให้ได้ 250 มล.

4.1.2.4 เก็บในขวดใส

4.1.3 0.2 M Na₂HPO₄.12H₂O

4.1.3.1 ชั่งสาร Na₂HPO₄.12H₂O มา 35.8 กรัม ใส่ลงในปิกเกอร์ขนาด 200 มล.

4.1.3.2 เติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อยแล้วคน

4.1.3.3 เทส่วนที่ละลายน้ำแล้วใส่ลงไปในขวดปรับปริมาตรขนาด 500 มล.

4.1.3.4 ล้างด้วยน้ำกลั่นจนสารละลายหมด

4.1.3.5 ปรับปริมาตรให้เป็น 500 มล.

4.1.3.6 เก็บในขวดใส

4.1.4 0.4 M CCl₃COOH

4.1.4.1 ชั่งสาร CCl₃COOH 65.4 กรัม ใส่ลงในปิกเกอร์ขนาด 100 มล.

4.1.4.2 ค่อยๆละลายลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มล.

4.1.4.3 ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มล.

4.1.4.4 เก็บในขวดสีชา

4.1.6 0.55 M Na₂CO₃

4.1.6.1 ชั่งสาร Na₂CO₃ มา 58.3 กรัม ใส่ลงในปิกเกอร์ขนาด 200 มล.

4.1.6.2 ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วเทใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มล.

บริษัท นอร์ธเทิร์น ฟู้ด คอมเพล็กซ์ จำกัด

วิธีการปฏิบัติงาน	เรื่อง: วิธีการวัดค่า Protease Activity	หน้า 3 ของ 4
รหัสเอกสาร: WI-QC-38	วันที่ประกาศใช้: 27 ตุลาคม 2543	แก้ไขครั้งที่: 00

4.1.6.3 ปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มล.

4.1.6.4 เก็บในขวดใส

4.2 วิธีการวัด

4.2.1 เตรียมตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ดังนี้

4.2.1.1 ชั่งโคจิมมา 10 กรัมใส่ลงในขวดที่มีฝาปิด

4.2.1.2 เติมน้ำกลั่น 200 มล. ด้วยกระบอกตวง

4.2.1.3 เขย่าเป็นเวลา 4 ชม.

4.2.1.4 กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 (2500 mesh)

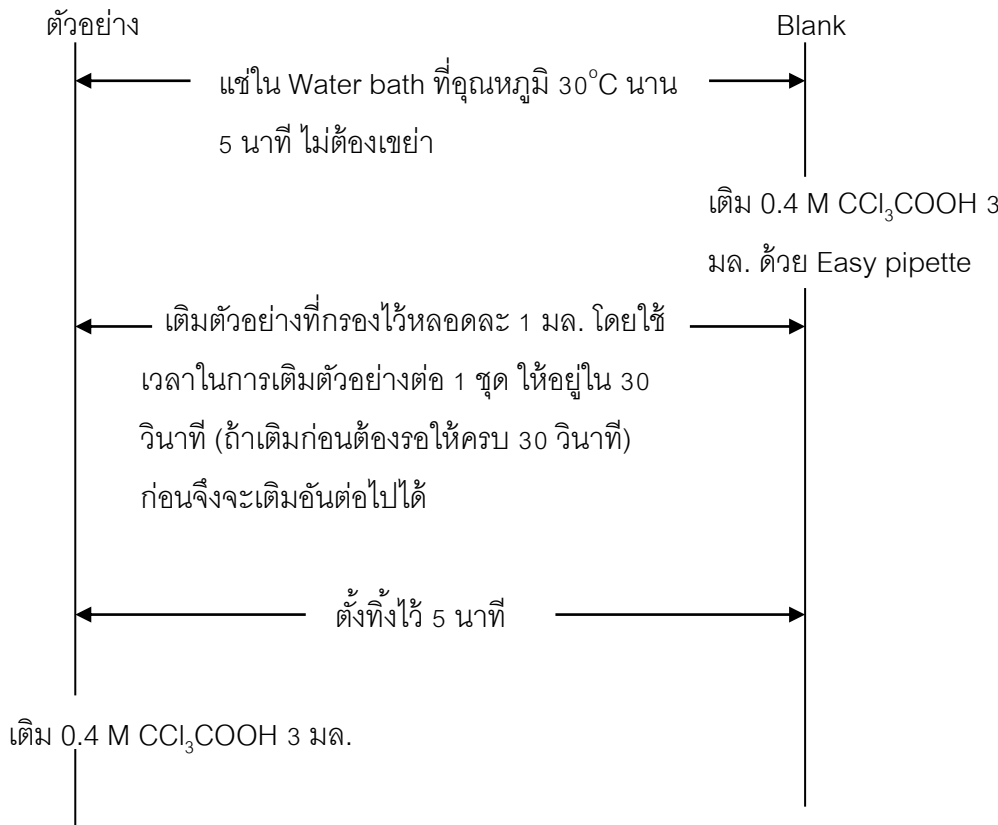
หมายเหตุ : ตัวอย่างที่กรองแล้วต้องเก็บที่ 5oC ห้ามเกิน 1 สัปดาห์ และหลังกรองต้องปิดทับด้วย Toluene แล้วใช้พาราฟินปิดอีกครั้งหนึ่ง

4.2.2 ปิเปต Casine milk 1.5% มา 25 มล. ด้วย V. pipette ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มล.

4.2.3 เติมน้ำกลั่น 25 มล. ด้วย V. pipette

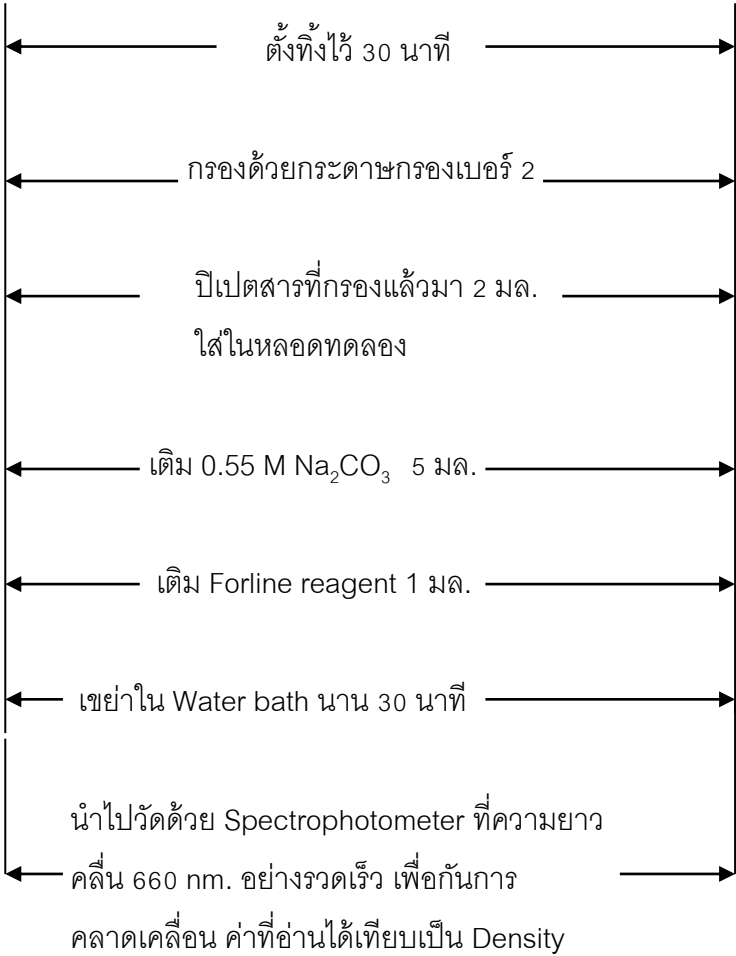
4.2.4 เขย่าให้เข้ากันแล้วปิเปตมา 2 มล. ด้วย Easy pipette ใส่ในหลอดทดลอง

4.2.3 แบ่งเป็น 2 ชุด



บริษัท นอร์ธเทิร์น ฟู้ด คอมเพล็กซ์ จำกัด

วิธีการปฏิบัติงาน	เรื่อง: วิธีการวัดค่า Protease Activity	หน้า 4 ของ 4
รหัสเอกสาร: WI-QC-38	วันที่ประกาศใช้: 27 ตุลาคม 2543	แก้ไขครั้งที่: 00



5. เอกสารที่เกี่ยวข้อง -ไม่มี-

|