

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการเตรียมสารเคมีในการทดลอง

1. การกินแบคทีเรียของ neutrophils

1.1 Acid citrate dextrose solution (ACD) (pH 5.4)

Trisodium citrate, dihydrate (75 mmol/l)	22	g
Citric acid, monohydrate (42 mmol/l)	8	g
Dextrose (139 mmol/l)	25	g
ละลายในน้ำกลั่น 1000 ml. Sterile ที่ 125 °c 15 นาที		

1.2 Ammonium Chloride solution (pH 7.2, 4 °c)

NH ₄ Cl	4.145	g
KHCO ₃	0.5	g
EDTA	0.0186	g
ละลายในน้ำกลั่น 500 ml. Sterile ที่ 125 °c 15 นาที นำไปแช่ในตู้เย็นที่ 4 °c		

1.3 0.15 M Phosphate buffer saline solution (PBSS) (0.9% NaCl, pH 7.4, 4 °c)

NaCl	8.9	g
Na ₂ HPO ₄	1.2	g
NaH ₂ PO ₄	0.15	g

ละลายใน น้ำกลั่น 1000 ml. คนด้วย magnetic stirrer จนไม่มีตะกอนเหลืออยู่
Sterile ที่ 125 °c 15 นาที นำไปแช่ในตู้เย็นที่ 4 °c

1.4 0.15 M Phosphate buffer saline solution (PBSS) (2.7 % NaCl, pH 7.4, 4 °c)

NaCl	27	g
Na ₂ HPO ₄	1.2	g
NaH ₂ PO ₄	0.15	g

ละลายใน น้ำกลั่น 1000 ml. คนด้วย magnetic stirrer จนไม่มีตะกอนเหลืออยู่
Sterile ที่ 125 °c 15 นาที นำไปแช่ในตู้เย็นที่ 4 °c

1.5 Turk solution

Glacial acetic acid	3	ml
1 % aqueous solution ของ gentian violet	1	ml
เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 ml.		

1.6 Hank balance salt solution (HBSS) (GIBCO)

ละลาย NaHCO_3 0.35 g ในน้ำกลั่น 300 ml. เติมผง HBSS ใสลงไป ผสมให้เข้ากัน
เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1000 ml. นำไปกรองด้วยชุดเครื่องกรอง

2. Enzyme Linked Immunosorbant assay

2.1 Carbonate buffer (Coating buffer)

Na_2CO_3	1.59	g
NaHCO_3	2.93	g
NaN_3	0.20	g
ละลายใน น้ำกลั่น 1000 ml.		

2.2 0.9 % Phosphate buffer saline + 0.5 % Tween 20

NaCl	8.9	g
Na_2HPO_4	1.2	g
NaH_2PO_4	0.15	g
Tween 20	5	ml

ละลายใน น้ำกลั่น 1000 ml. คนด้วย magnetic stirrer จนไม่มีตะกอนเหลืออยู่

2.3 Substrate OPD (1-2, Phenylenediamine)

2.3.1 Substrate OPD (stock) solution

1-2, Phenylenediamine (Sigma)	100	mg
-------------------------------	-----	----

Methanol, absolute	10	ml
2.3.2 0.1 M Citric acid-phosphate buffer (4 °c)		
Citric acid, H ₂ O	7.30	g
Na ₂ HPO ₄	9.47	g
Add water to	1,000	ml
นำไปแช่ในตู้เย็นที่ 4 °c ใช้ได้ไม่เกิน 2 เดือน		
2.3.3 OPD substrate working solution		
Substrate OPD (stock) solution	1,600	µl
0.1 M Citric acid-phosphate buffer	24	ml
30 % H ₂ O ₂	5	µl

3. การวัดความเข้มข้นของทองแดงในซีรัม อวัยวะภายใน และอาหาร

3.1 Standard copper solution

Standard copper solution 5 mg/l

Standard copper 100 mg/l (Merk) 5 ml

น้ำกลั่นไร้ประจุ 95 ml

Standard copper solution 4 mg/l

Standard copper solution 5 mg/l 80 ml

น้ำกลั่นไร้ประจุ 20 ml

Standard copper solution 3 mg/l

Standard copper solution 4 mg/l 75 ml

น้ำกลั่นไร้ประจุ 25 ml

Standard copper solution 2 mg/l

Standard copper solution 3 mg/l 66.67 ml

น้ำกลั่นไร้ประจุ 23.33 ml

Standard copper solution 1 mg/l

Standard copper solution 2 mg/l 50 ml

น้ำกลั่นไร้ประจุ 50 ml

4. การวัดการทำงานของ ceruloplasmin

4.1 Acetate buffer solution (1.09 mol/l) (ionic strength 1.2, pH 6.2)

Sodium acetate ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)	16.3	g
Glacial acetic acid	1.5	ml.

เติมน้ำกลั่นให้ถึงปริมาตร 80 ml. แช่ใน water bath ที่ 37°C สักครู่ วัด pH ของสารละลาย ปรับ pH ให้เป็น 6.2 ด้วย acetic acid หรือ sodium hydroxide เติมน้ำกลั่นให้ครบปริมาตร

4.2 0.02 % Sodium azide (NaN_3) solution

Sodium azide	0.02	g
--------------	------	---

เติมน้ำกลั่น 100 ml. ผสมให้เข้ากัน (ไม่คงสภาพต้องเตรียมใหม่ทุกวัน)

4.3 0.1 % Buffered p-phenylenediamine dihydrochloride solution

p-phenylenediamine dihydrochloride (PPD)	0.01	g
acetate buffer solution	10	ml.

เมื่อได้น้ำยาแล้วต้องใช้ทดลองทันที เนื่องจาก PPD สามารถเกิด auto-oxidation ได้รวดเร็วมาก และระวังอย่าให้น้ำยาถูกแสง

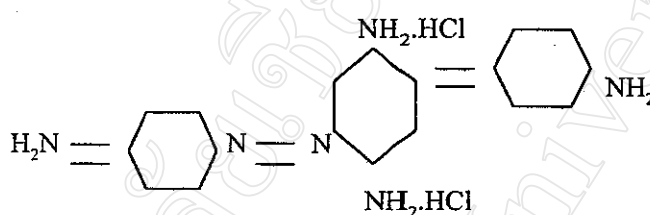
4.4 Brandowski 's Base

ละลาย p-phenylenediamine 10 g ในน้ำกลั่น 750 ml. ที่มี conc. ammonium hydroxide 3 ml. ผสมอยู่ เติม 3 % hydrogen peroxide 125 ml. ลงไป ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชั่วโมง กรองโดยใช้ Buchner funnel แล้วล้างผลึกที่ได้ด้วยน้ำกลั่นไร้ประจุ (อุณหภูมิประมาณ $4-10^\circ\text{C}$) แล้วนำผลึกไปทำให้แห้งใน vacuum dessicator ในที่มีอุณหภูมิไม่เปลี่ยนแปลง นำไปทำ calibration

วิธีการทำ calibration

หลักการ

Hydrogen peroxide จะ oxidise PPD ใน aqueous ammoniacal solution ให้เป็น Brandowski's Base ซึ่งเป็นสารประกอบที่เป็นผลึกบริสุทธิ์มี empirical formula : $C_{18}H_{18}N_6$ น้ำหนักโมเลกุล 318.4 และมีสูตรโครงสร้างดังนี้



Brandowski's Base มี spectral absorption curve เหมือนกับสีที่เกิดจาก p-phenylenediamine oxidase activity ของ ceruloplasmin เมื่อวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 540 nm ค่าที่ได้จะเป็นไปตาม Beer's law จนถึงความเข้มข้น 50 $\mu\text{g/ml}$

วิธีการเตรียม stock Brandowski's base

1. ชั่งผลึกของ Brandowski's base 5 mg ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 ml.
2. เติม acetate buffer 75 ml. ค่อย ๆ เติมจน ไม่มีผลึกติดตามขอบ
3. เขย่าด้วยเครื่องนาน 2 ชั่วโมง
4. เติม acetate buffer ให้ครบ 100 ml. (น้ำยานี้มีผลึกของ Brandowski's base เข้มข้น 50 $\mu\text{g/ml}$)

** น้ำยานี้ใช้ได้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

วิธีการหาค่ามาตรฐานจาก Brandowski 's Base

1. เตรียมหลอดทดลอง 5 หลอด เขียนฉลาก 1 ถึง 4 และ blank เติม 0.02 % sodium azide ลงไปหลอดละ 5 ml.

หลอดที่	น้ำยา Stock Brandowski rs Base (ml)	Acetate buffer	ความเข้มข้นของ base ($\mu\text{g/ml}$)
1	1.0	0	50
2	1.0	1.0	25
3	1.0	4.0	10
4	1.0	9.0	5

2. ดูค่าน้ำยาที่เตรียมไว้ดังตารางข้างต้นลงในหลอดทดลองหมายเลข 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ
3. เติมซีรัมลงไปหลอดละ 0.1 ml.
4. หลอด blank เติม acetate buffer ลงไป 0.1 ml.
5. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm

การคำนวณการทำงานของ ceruloplasmin

หาค่า Absorptivity (a) โดยใช้สูตร

$$a = \frac{\text{standard absorbance} \times \text{ligh path of cuvet (cm)}}{\text{standard concentration (g/l)}}$$

นำค่าที่ได้จากทั้ง 4 หลอดมาเฉลี่ย

หาค่า Molar absorptivity (E)

$$E = \text{ค่าเฉลี่ยของ } a \times \text{molecular weight of standard /1000 (mol/ml/cm)}$$

ภาคผนวก ข
รายละเอียดข้อมูลจากการทดลอง

ตารางภาคผนวก 1 ปริมาณอาหารที่กิน (ก./วันและคิดเป็นร้อยละของน้ำหนักตัว) ของแพะทดลอง
แต่ละกลุ่มในแต่ละระยะของการทดลอง

ตัวที่	วันที่	วันที่											
		0-30		30-60		60-90		90-120		120-150		เฉลี่ย	
		FI	% BW	FI	% BW	FI	% BW	FI	% BW	FI	% BW	FI	% BW
กลุ่มควบคุม	1	342.33	2.22	151.00	1.21	228.00	2.00	181.00	1.51	373.33	2.54	255.13	1.90
	2	365.67	2.58	319.67	2.14	472.33	2.81	533.67	2.67	550.67	2.62	448.44	2.56
	3	274.33	1.96	248.33	1.75	515.33	3.18	553.67	2.91	596.67	2.87	437.67	2.53
	4	245.33	2.31	276.00	2.44	473.67	3.38	526.33	3.04	541.67	2.88	412.6	2.81
	เฉลี่ย	306.92	2.27	248.75	1.89	422.33	2.84	448.67	2.53	515.58	2.73	388.45	2.45
กลุ่ม + Cu 20 ppm	1	502.33	3.26	427.67	2.59	441.67	2.47	515.33	2.55	539.67	2.45	485.33	2.66
	2	409.67	2.71	372.00	2.35	451.33	2.69	448.00	2.60	470.67	2.61	430.33	2.59
	3	402.33	3.17	431.67	2.94	511.67	2.99	523.67	2.57	570.43		483.92	2.92
	4	463.33	2.59	538.67	2.63	564.33	2.49	559.33	2.29	621.00	2.35	549.33	2.47
	เฉลี่ย	444.42	2.93	442.50	2.63	492.25	2.66	511.58	2.50	550.44	2.47	487.23	2.64
กลุ่ม + Cu 50 ppm	1	342.00	2.21	380.67	2.23	165.33	1.18	193.33	1.48	215.67	1.94	259.40	1.81
	2	274.67	2.02	225.67	1.61	429.00	2.70	494.33	2.63	500.67	2.41	384.87	2.28
	3	235.33	1.77	149.67	1.27	167.00	1.48	97.50				170.58	1.51
	4	208.00	1.64	150.33	1.58							155.83	1.61
	เฉลี่ย	265.00	1.91	226.58	1.67	214.71	1.79	272.21	2.06	358.17	2.17	242.67	1.92

FI = ปริมาณอาหารที่กิน (ก./วัน)

%BW = ปริมาณอาหารที่กินคิดเป็นร้อยละของน้ำหนักตัว

ตารางภาคผนวก 2 น้ำหนัก (ก.ก.) ของแพะทดลองแต่ละกลุ่มในแต่ละระยะของการทดลอง

	ตัวที่	วันที่					
		0	30	60	90	120	150
กลุ่มควบคุม	1	16.4	15.4	12.5	11.4	12.0	14.7
	2	13.4	14.2	14.9	16.8	20.0	22.5
	3	13.9	14.0	14.2	16.2	19.0	21.8
	4	10.3	10.6	11.3	14.0	17.3	19.2
	เฉลี่ย	13.50	13.55	13.23	14.60	17.08	19.55
กลุ่ม + Cu 20 ppm	1	13.8	15.4	16.5	17.9	20.2	22.0
	2	14.0	15.1	15.8	16.8	17.2	18.0
	3	10.8	12.7	14.7	17.1	20.4	
	4	15.5	17.9	20.5	22.7	24.4	26.4
	เฉลี่ย	13.53	15.28	16.88	18.63	20.55	22.13
กลุ่ม + Cu 50 ppm	1	15.2	15.5	17.1	14	13.1	11.1
	2	13.5	13.6	14	15.9	18.7	20.8
	3	13.7	13.3	11.8	11.3		
	4	13.0	12.7	9.5			
	เฉลี่ย	13.85	13.78	13.10	13.73	15.90	15.95

ตารางภาคผนวก 3 อัตราการเพิ่มน้ำหนัก (ก./วัน) ของแพะทดลองแต่ละกลุ่มในแต่ละระยะของการทดลอง

	ตัวที่	วันที่					เฉลี่ย
		0-30	30-60	60-90	90-120	120-150	
กลุ่มควบคุม	1	-33.33	-96.67	-36.67	20.00	90.00	-11.33
	2	26.67	23.33	63.33	106.67	83.33	60.67
	3	3.33	6.67	66.67	93.33	93.33	52.67
	4	10.00	23.33	90.00	110.00	63.33	59.33
	เฉลี่ย	1.67	-10.83	45.83	82.50	82.50	40.30
กลุ่ม + Cu 20 ppm	1	53.33	36.67	46.67	76.67	60.00	54.67
	2	36.67	23.33	33.33	13.33	26.67	26.67
	3	63.33	66.67	80.00	110.00		80.0
	4	80.00	86.67	73.33	56.67	66.67	72.67
	เฉลี่ย	58.33	53.33	58.33	64.17	51.11	57.06
กลุ่ม + Cu 50 ppm	1	10.00	53.33	-103.33	-30.00	-66.67	-27.00
	2	3.33	13.33	63.33	93.33	70.00	48.67
	3	-13.33	-50.00	-16.67			-24.17
	4	-10.00	-106.67				-58.33
	เฉลี่ย	-2.50	-22.50	-18.89	15.55	1.67	-6.00

ตารางภาคผนวก 4 ค่าโลหิตวิทยาของแพะทดลองแต่ละกลุ่มในแต่ละระยะของการทดลอง

เม็ดเลือดแดง (10^6 cells/ml)

	ตัวที่	วันที่					เฉลี่ย	
		0	30	60	90	120		150
กลุ่มควบคุม	1	13.72	14.23	14.14	14.2	13.86	12.99	13.86
	2	14.26	14.55	14.45	14.32	14.32	13.87	14.30
	3	13.54	13.72	13.81	14.16	14.29	14.53	14.01
	4	13.65	13.35	13.78	14.22	14.28	14.25	13.92
	เฉลี่ย	13.79	13.96	14.04	14.22	14.19	13.91	
กลุ่ม + Cu 20 ppm	1	14.12	13.95	13.64	14.74	14.41	14.67	14.26
	2	14.05	14.14	13.91	14.11	13.99	14.16	14.06
	3	13.35	14.56	14.25	14.52	14.12		14.16
	4	14.12	14.36	14.23	14.36	14.32	14.78	14.36
	เฉลี่ย	13.91	14.25	14.01	14.43	14.21	14.54	
กลุ่ม + Cu 50 ppm	1	14.06	14.35	14.36	14.15	14.52	13.68	14.19
	2	13.88	13.46	13.3	14.41	14.32	14.56	13.99
	3	13.46	13.33	13.54	13.61			13.36
	4	13.41	13.56	13.12				13.92
	เฉลี่ย	13.70	13.68	13.58	14.06	14.42	14.12	

ตารางภาคผนวก 4 (ต่อ)

เม็ดเลือดขาว (10^3 cells/ml)

	ตัวที่	วันที่						เฉลี่ย
		0	30	60	90	120	150	
กลุ่มควบคุม	1	9.22	9.34	9.45	9.23	9.41	10.45	9.52
	2	9.48	8.97	9.23	9.33	8.87	8.65	9.09
	3	9.26	9.25	9.05	8.56	8.66	8.71	8.92
	4	7.89	8.34	9.21	8.88	8.78	9.55	8.78
	เฉลี่ย	8.96	8.97	9.23	9.00	8.93	9.34	
กลุ่ม + Cu 20 ppm	1	7.91	8.54	8.5	8.87	9.22	8.72	8.63
	2	8.4	9.12	9.23	9.05	9.16	8.84	8.97
	3	9.23	9.13	9.11	9.13	9.12		9.14
	4	8.81	8.74	8.87	8.87	8.88	8.96	8.86
	เฉลี่ย	8.59	8.88	8.93	8.98	9.10	8.84	
กลุ่ม + Cu 50 ppm	1	8.82	8.96	9.12	8.89	9.1	10.23	9.19
	2	8.72	9.14	9.15	9.14	9.05	9.12	9.05
	3	9.16	8.95	10.22	12.4			10.18
	4	8.78	9.21	12.2				10.06
	เฉลี่ย	8.87	9.06	10.17	10.14	9.08	9.68	

ตารางภาคผนวก 4 (ต่อ)

ซีโมโกลบิน (g/100 ml.)

	ตัวที่	วันที่					เฉลี่ย	
		0	30	60	90	120		150
กลุ่มควบคุม	1	9.55	9.64	9.56	9.46	9.14	9.12	9.41
	2	9.77	9.66	9.66	9.54	9.43	9.56	9.60
	3	9.49	9.45	9.78	9.53	9.44	9.56	9.54
	4	9.46	9.36	9.41	9.44	9.71	9.84	9.54
	เฉลี่ย	9.57	9.53	9.60	9.49	9.43	9.52	
กลุ่ม + Cu 20 ppm	1	9.61	9.56	9.57	9.54	9.65	9.65	9.60
	2	9.39	9.34	9.48	9.51	9.48	9.13	9.39
	3	9.45	9.48	9.56	9.41	9.63		9.51
	4	9.58	9.66	9.63	9.46	9.68	9.77	9.63
	เฉลี่ย	9.51	9.51	9.56	9.48	9.61	9.52	
กลุ่ม + Cu 50 ppm	1	9.89	9.71	9.51	9.13	9.22	9.06	9.42
	2	9.22	9.25	9.33	9.46	9.56	9.57	9.40
	3	9.26	9.21	9.14	9.24			9.21
	4	9.24	9.36	9.21				9.27
	เฉลี่ย	9.40	9.38	9.30	9.28	9.39	9.32	

ตารางภาคผนวก 4 (ต่อ)

เม็คเลือดแดงอัดแน่น (%)

	ตัวที่	วันที่						เฉลี่ย
		0	30	60	90	120	150	
กลุ่มควบคุม	1	28.54	29.12	29.02	29.05	28.58	28.05	28.73
	2	29.65	29.92	30.26	29.86	29.74	29.58	29.84
	3	29.34	29.54	30.05	30.25	30.34	30.55	30.01
	4	29.94	29.55	30.04	30.21	30.10	30.08	29.99
	เฉลี่ย	29.37	29.53	29.84	29.84	29.69	29.64	
กลุ่ม + Cu 20 ppm	1	29.14	29.18	30.25	29.67	29.87	29.84	29.66
	2	29.66	29.74	29.65	30.55	28.65	29.13	29.56
	3	29.25	30.68	30.24	30.48	29.48		30.03
	4	30.02	30.05	30.14	31.22	30.25	30.33	30.34
	เฉลี่ย	29.52	29.91	30.07	30.48	29.56	29.77	
กลุ่ม + Cu 50 ppm	1	29.12	29.48	31.24	30.89	29.95	28.79	29.58
	2	27.45	28.69	30.11	31.26	31.16	31.21	29.65
	3	28.76	28.15	29.31	28.81			28.76
	4	28.87	28.51	28.87				28.75
	เฉลี่ย	28.80	28.71	29.63	29.65	30.06	29.50	

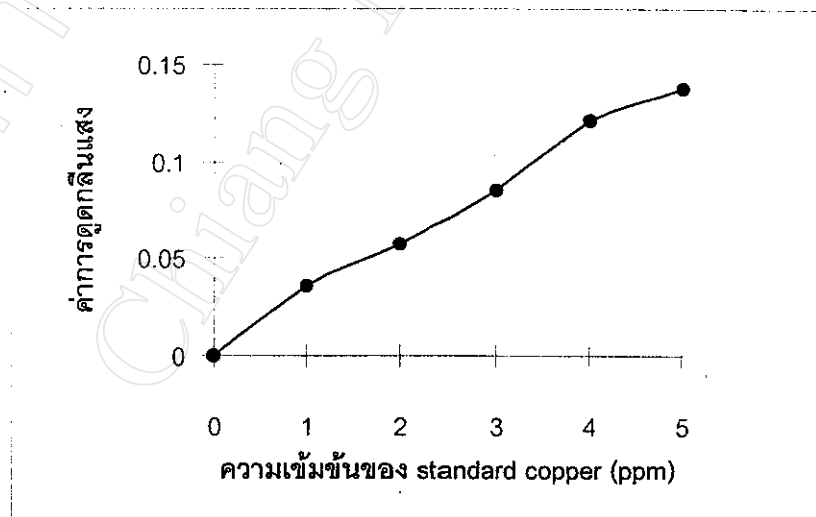
ตารางภาคผนวก 5 ค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของ standard copper

ความเข้มข้นของ standard copper (ppm ^{1/})	A ^{2/}
0	0
1	0.036
2	0.058
3	0.085
4	0.121
5	0.138

^{1/} ppm = มิลลิกรัมต่อลิตร

^{2/} A คือ ค่าการดูดกลืนแสงจากการวัดด้วย atomic absorption spectrophotometer

รูปแสดงผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของ standard copper



สมการเส้นตรง $y = 0.0278x + 0.0036$

$$r = 0.996$$

เมื่อ y คือ ค่าการดูดกลืนแสง

x คือความเข้มข้นของทองแดง

ตารางภาคผนวก 6 ค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของทองแดงในซีรัมของแพะทดลองแต่ละกลุ่มในแต่ละระยะของการทดลอง

ตัวที่		วันที่											
		0		30		60		90		120		150	
		1/ A	2/ Cu	A	Cu	A	Cu	A	Cu	A	Cu	A	Cu
กลุ่มควบคุม	1	0.011	79.86	0.011	79.86	0.012	90.65	0.011	79.86	0.012	90.65	0.012	90.65
	2	0.011	79.86	0.01	69.06	0.011	79.86	0.011	79.86	0.012	90.65	0.012	90.65
	3	0.012	90.65	0.011	79.86	0.012	90.65	0.012	90.65	0.012	90.65	0.011	79.86
	4	0.011	79.86	0.011	79.86	0.011	79.86	0.012	90.65	0.01	69.0647	0.011	79.86
	เฉลี่ย	0.011	82.55	0.011	77.16	0.012	85.25	0.012	85.25	0.012	85.25	0.012	85.25
กลุ่ม + Cu 20 ppm	1	0.012	90.65	0.01	69.06	0.012	90.65	0.011	79.86	0.011	79.86	0.012	90.65
	2	0.012	90.65	0.012	90.65	0.012	90.65	0.012	90.65	0.013	101.44	0.012	90.65
	3	0.012	90.65	0.013	101.44	0.012	90.65	0.012	90.65	0.012	90.65		
	4	0.012	90.65	0.016	133.81	0.011	79.86	0.011	79.86	0.012	90.65	0.012	90.65
	เฉลี่ย	0.012	90.65	0.012	82.55	0.012	87.95	0.012	85.25	0.012	90.65	0.012	90.65
กลุ่ม + Cu 50 ppm	1	0.013	101.44	0.012	90.65	0.009	58.27	0.011	79.86	0.01	69.06	0.012	90.65
	2	0.013	101.44	0.011	79.86	0.011	79.86	0.012	90.65	0.011	79.86	0.012	90.65
	3	0.013	101.44	0.012	90.65	0.011	79.86	0.013	101.44				
	4	0.012	90.65	0.012	90.65	0.013	101.44						
	เฉลี่ย	0.013	98.74	0.012	87.95	0.011	79.86	0.012	90.65	0.011	74.46	0.012	90.65

1/ A คือ ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbances)

2/ Cu คือ ความเข้มข้นของทองแดงในซีรัม (ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร)

ตารางภาคผนวก 7 ค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของทองแดงในอวัยวะภายในของแพะ
ทดลองแต่ละกลุ่มในแต่ละระยะของการทดลอง

	ตัวที่	อวัยวะภายใน					
		ตับ		ไต		ม้าม	
		A ^{1/}	Cu ^{2/}	A	Cu	A	Cu
กลุ่มควบคุม	1	0.069	235.25	0.016	22.302	0.011	7.98
	2	0.074	253.24	0.018	25.90	0.013	10.14
	3	0.081	278.42	0.02	29.50	0.011	7.98
	4	0.076	260.43	0.018	25.90	0.013	10.15
	เฉลี่ย		256.83		25.90		9.06
กลุ่ม + Cu 20 ppm	1	0.125	436.69	0.023	34.89	0.013	10.14
	2	0.132	461.87	0.022	33.09	0.013	10.14
	3	0.126	440.29	0.021	31.29	0.011	7.98
	4	0.129	451.08	0.021	31.29	0.012	9.06
	เฉลี่ย		447.48		32.64		9.33
กลุ่ม + Cu 50 ppm	1	0.138	483.45	0.022	33.09	0.013	10.14
	2	0.145	508.63	0.02	29.50	0.013	10.14
	3	0.135	472.66	0.02	29.50	0.012	9.06
	4	0.124	433.09	0.021	31.29	0.011	7.98
	เฉลี่ย		474.46		30.84		9.33

^{1/} A คือ ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbances)

^{2/} Cu คือ ความเข้มข้นของทองแดงในอวัยวะ (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมวัตถุแห้ง)

ตารางภาคผนวก 8 ความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงของ standard จาก Brandowski 's Base

ค่า standard จาก Brandowski 's Base			
ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง	Absorptivity (a)	Molar absorptivity (E)
0.05	0.114	2.28	
0.025	0.068	2.72	
0.01	0.029	2.90	
0.005	0.016	3.20	
	เฉลี่ย	2.775	$2.775 \times 318.4 = 860 \text{ mol/l}$
			0.86 mol/ml

ตารางภาคผนวก 9 ค่าการดูดกลืนแสงและการทำงานของ ceruloplasmin ของแพะทดลองแต่ละกลุ่มในแต่ละระยะของการทดลอง

ตัวที่	วันที่	วันที่											
		0		30		60		90		120		150	
		A ^{1/}	U ^{2/}	A	U	A	U	A	U	A	U	A	U
กลุ่มควบคุม	1	0.184	71.32	0.175	67.83	0.179	69.38	0.180	69.77	0.175	67.83	0.169	65.50
	2	0.192	74.42	0.208	80.62	0.217	84.11	0.212	82.17	0.214	82.95	0.208	80.62
	3	0.190	73.64	0.178	68.99	0.1835	71.12	0.194	75.19	0.187	72.48	0.188	72.87
	4	0.181	70.16	0.190	73.64	0.208	80.62	0.189	73.26	0.192	74.42	0.192	74.42
	เฉลี่ย	0.187	72.38	0.188	72.77	0.197	76.31	0.194	75.10	0.192	74.42	0.189	73.35
กลุ่ม+ Cu 20 ppm	1	0.176	68.22	0.188	73.06	0.1985	76.94	0.186	72.10	0.192	74.42	0.196	75.97
	2	0.188	73.06	0.209	81.01	0.211	81.78	0.200	78.29	0.208	80.62	0.212	82.17
	3	0.213	82.56	0.201	77.91	0.182	70.54	0.211	81.78	0.205	79.46		
	4	0.172	66.67	0.208	80.62	0.198	76.94	0.205	79.46	0.200	77.52	0.208	80.62
	เฉลี่ย	0.187	72.63	0.202	78.15	0.198	76.55	0.201	77.91	0.201	78.00	0.205	79.59
กลุ่ม+ Cu 50 ppm	1	0.206	80.04	0.176	68.22	0.194	75.39	0.187	72.48	0.188	72.87	0.175	67.83
	2	0.195	75.58	0.178	68.99	0.198	76.94	0.203	78.68	0.197	76.36	0.206	79.85
	3	0.168	65.12	0.184	71.32	0.196	76.16	0.205	79.46				
	4	0.229	88.76	0.191	74.03	0.190	73.84						
	เฉลี่ย	0.200	77.37	0.182	70.64	0.195	75.58	0.198	76.87	0.192	74.61	0.190	73.84

^{1/} A คือ ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbances)

^{2/} U คือ ค่า activities ของ ceruloplasmin (IU/l)

ตารางภาคผนวก 10 ร้อยละของแบคทีเรียที่ถูกกิน โดย neutrophils ของแพะทดลองแต่ละกลุ่มใน
แต่ละระยะของการทดลอง

	ตัวที่	วันที่					
		0	30	60	90	120	150
กลุ่มควบคุม	1	98.87	99.93	99.90	99.96	98.53	98.88
	2	98.41	99.64	99.73	99.41	98.30	94.62
	3	99.95	99.87	99.90	99.70	97.75	99.82
	4	99.81	99.97	99.87	99.24	99.45	99.97
	เฉลี่ย	99.26	99.85	99.85	99.58	98.51	98.32
กลุ่ม + Cu 20 ppm	1	98.19	99.87	95.77	99.58	99.72	96.35
	2	99.92	99.48	99.72	99.83	98.76	99.96
	3	99.87	99.91	99.92	98.99	99.64	
	4	99.89	99.95	99.94	99.59	99.75	99.94
	เฉลี่ย	99.47	99.80	99.84	99.50	99.47	98.75
กลุ่ม + Cu 50 ppm	1	98.78	99.99	99.68	99.99	97.86	98.02
	2	99.08	99.87	99.67	99.32	99.45	98.00
	3	98.94	99.99	99.92	99.97		
	4	99.94	99.88	99.92			
	เฉลี่ย	99.19	99.93	99.80	99.76	98.66	98.01

ตารางภาคผนวก 11 ร้อยละของการตายของแบคทีเรียที่ถูกกิน โดย neutrophils ของแพะทดลองแต่ละกลุ่มในแต่ละระยะของการทดลอง

		วันที่					
	ตัวที่	0	30	60	90	120	150
กลุ่มควบคุม	1	99.98	99.99	99.99	99.99	99.99	99.99
	2	99.99	99.99	99.99	99.96	99.98	99.99
	3	99.99	99.99	99.99	99.97	99.99	99.99
	4	99.93	99.99	99.99	99.97	99.99	99.99
	เฉลี่ย	99.97	99.99	99.99	99.98	99.99	99.99
กลุ่ม + Cu 20 ppm	1	99.99	99.99	99.99	99.99	99.96	99.99
	2	99.99	99.99	99.99	99.97	99.99	99.99
	3	99.97	99.99	99.99	99.95	99.96	
	4	99.94	99.99	99.98	99.86	99.99	99.98
	เฉลี่ย	99.98	99.99	99.99	99.94	99.98	99.99
กลุ่ม + Cu 50 ppm	1	99.99	99.99	99.99	99.99	99.95	99.99
	2	99.99	99.99	99.99	99.99	99.96	99.99
	3	99.77	99.99	99.99	99.98		
	4	99.99	99.99	99.99			
	เฉลี่ย	99.94	99.99	99.99	99.99	99.95	99.99

ตารางภาคผนวก 12 ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของการวัดระดับแอนติบอดีโดยวิธี Indirect ELISA
ของแพะทดลองแต่ละกลุ่ม

		อัตราส่วนของซีรัม 1:											
		200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	51200	102400	204800	409600
กลุ่มควบคุม	P	0.156	0.146	0.119	0.125	0.205	0.124	0.098	0.104	0.089	0.098	0.141	0.102
	A	1.070	0.800	0.567	0.380	0.256	0.180	0.133	0.129	0.097	0.097	0.086	0.089
	B	1.560	1.234	0.924	0.653	0.462	0.324	0.214	0.178	0.130	0.116	0.102	0.097
กลุ่ม + Cu 20 ppm	P	0.168	0.145	0.122	0.114	0.102	0.109	0.097	0.103	0.098	0.104	0.096	0.103
	A	1.244	0.934	0.687	0.477	0.324	0.235	0.166	0.141	0.118	0.109	0.097	0.095
	B	1.761	1.339	1.027	0.736	0.529	0.370	0.253	0.190	0.145	0.129	0.116	0.108
กลุ่ม + Cu 50 ppm	P	0.146	0.135	0.141	0.120	0.117	0.113	0.104	0.115	0.108	0.107	0.102	0.109
	A	1.165	0.915	0.672	0.481	0.342	0.264	0.192	0.161	0.136	0.121	0.114	0.113
	B	1.394	1.128	0.842	0.617	0.448	0.318	0.214	0.183	0.142	0.118	0.113	0.105

P = ซีรัมก่อนกระตุ้น (Pre-immunized serum)

A = ซีรัมจากการกระตุ้นครั้งแรก (Primary immunized serum)

B = ซีรัมจากการกระตุ้นครั้งที่สอง (Secondary immunized serum)

ค่า cut-off เฉลี่ย = 0.2893

ตารางภาคผนวก 13 แอนติบอดีไคเตอร์ของแพะแต่ละตัวจากการวัดโดยวิธี Indirect ELISA ของ
แพะทดลองแต่ละกลุ่ม

	ตัวที่	Pre-immunized serum	Primary immunized serum	Secondary immunized serum
กลุ่มควบคุม	1	ต่ำกว่า 200	1600	6400
	2	ต่ำกว่า 200	3200	12800
	3	ต่ำกว่า 200	800	6400
	4	ต่ำกว่า 200	3200	3200
กลุ่ม + Cu 20 ppm	1	ต่ำกว่า 200	3200	3200
	2	ต่ำกว่า 200	800	6400
	3	ต่ำกว่า 200	6400	25600
	4	ต่ำกว่า 200	3200	6400
กลุ่ม + Cu 10 ppm	1	ต่ำกว่า 200	1600	6400
	2	ต่ำกว่า 200	12800	12800
	3	ต่ำกว่า 200	800	3200

ประวัติผู้เขียน

- ชื่อ นายธนา อภิญญาวัฒน์
- วัน เดือน ปี เกิด 19 กุมภาพันธ์ 2516
- ประวัติการศึกษา
- สำเร็จการศึกษาชั้นประถมศึกษา ปีการศึกษา 2526 โรงเรียนอนุชนวัฒนา อ. เมือง จ. นครสวรรค์
 - สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนต้น ปีการศึกษา 2529 โรงเรียนลาดยาววิทยาคม อ. ลาดยาว จ. นครสวรรค์ และชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย ปีการศึกษา 2532 โรงเรียนนครสวรรค์ อ. เมือง จ. นครสวรรค์
 - สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) สาขาเกษตรศาสตร์ ปีการศึกษา 2537 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่