

แบบมาตรฐานวิธีการใช้เครื่องมือ Standard Operation Procedure (SOP)

ชื่อเครื่องมือ: Video store densitometer

เครื่องถ่ายภาพ TLC plate ใน UV Carbinat

เลขครุภัณฑ์: ภส.05-330-001/46

ผู้ดูแลการใช้เครื่องมือ (ส่วนของ Hardware): นายวีระวุท กะชา

ผู้เขียน SOP (Software): นายวีระวุท กะชา (camag)

วันที่: 3 ตุลาคม 2553

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลาง ชั้น 4
คณะเภสัชศาสตร์

เหตุขัดข้องติดต่อ: นายวีระวุท กะชา
ผศ.ดร.สุदारัตน์ หอมหวล

SOP-TYPE: Short form,Version I

หลักการการทำงานของเครื่องมือ

ขนาดตัวอักษรให้ใช้ตามรูปแบบนี้เป็นเครื่องวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารจากแผ่น TLC/HPTLC โดยวิธีฉายแสงที่ความยาวคลื่นเฉพาะแถบสารตัวอย่าง และวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) หรือวัดค่าการเรืองแสง (Flourescence) ของสาร เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

ตำแหน่งที่ตั้งของเครื่องมือ, อุปกรณ์ประกอบ และ วัสดุที่ใช้

ห้องปฏิบัติการกลางคณะเภสัชศาสตร์ ชั้น 4 (PH 413A)

อุปกรณ์ที่จำเป็นต้องใช้ในการป้องกันอันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการใช้งาน

1. แว่นตา UV
2. ถุงมือ
3. ผ้าปิดจมูก

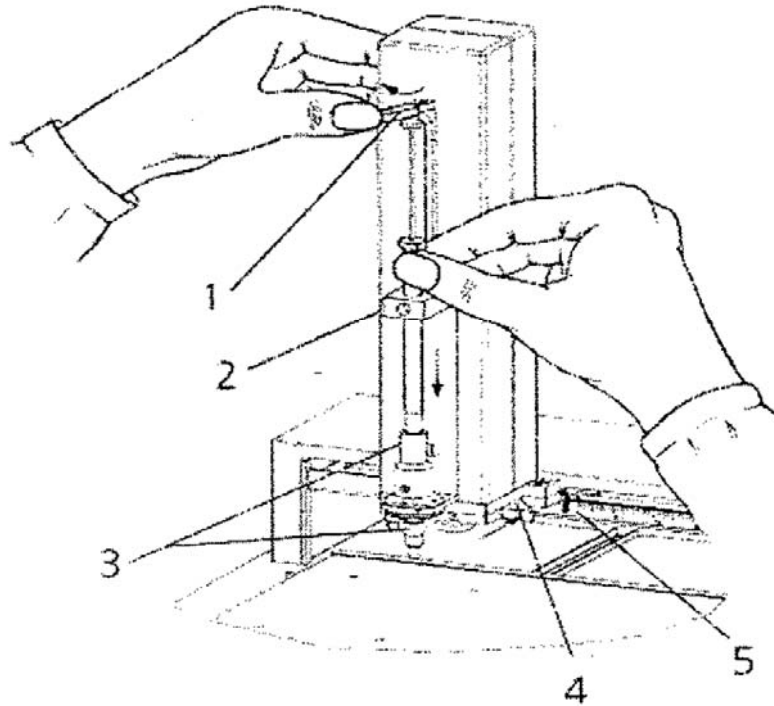
มาตรฐานของวัสดุสิ้นเปลืองที่จำเป็นต้องใช้ในการทำงาน

1. แผ่น TLC Plate
2. แก๊ส ไนโตรเจน ความดัน 4-5 bar
3. Solvent ที่ใช้เป็น Mobile Phase

วิธีการใช้เครื่องมือ

การใส่ Syringe

1. ตรวจสอบตำแหน่งของแท่นวาง Plate อยู่ด้านหน้า และ Lever arm อยู่ด้านหลัง
2. ดูดสารที่ต้องการที่ต้องการลงใน Syringe ตามปริมาณที่กำหนด
3. ใช้มือซ้ายดัน Lever arm (1) ไปทางซ้ายหรือจับไว้



Installation of the syringe 1 = Lever arm, 2 = syringe holder, 3 = Spray head assembly with nozzle, 4 = slide coupler, 5 = scale pointer

การปรับตำแหน่ง Application Y

- กด slider coupler (4) ดันเลื่อนไปด้านหลังจนคลายล็อก
- เลื่อนหัวฉีดไปยังตำแหน่ง Y ที่ต้องการ โดยดูได้จาก position (5) scale

การวางแผ่น TLC Plate

- เลื่อน แกนยกระดับ(1) ไปที่ตำแหน่งด้านหลังเพื่อปรับระดับแท่นวางให้ต่ำลง
- เลื่อนขอบคิ้ว(2)ลงมาเพื่อวางplate
- วางแผ่น TLC ลงบนแท่น เลื่อนแผ่นไปทางซ้ายให้ติดขอบคิ้วด้านหลังของแท่นและหมุด position pin(4) ทั้ง2อัน
- ดันขอบคิ้วด้านหน้าไปที่ตำแหน่งเดิม
- เลื่อนแกนยกระดับไปที่ตำแหน่งด้านหน้า ให้เลื่อนเบาๆเพื่อป้องกันร้าวการแตก

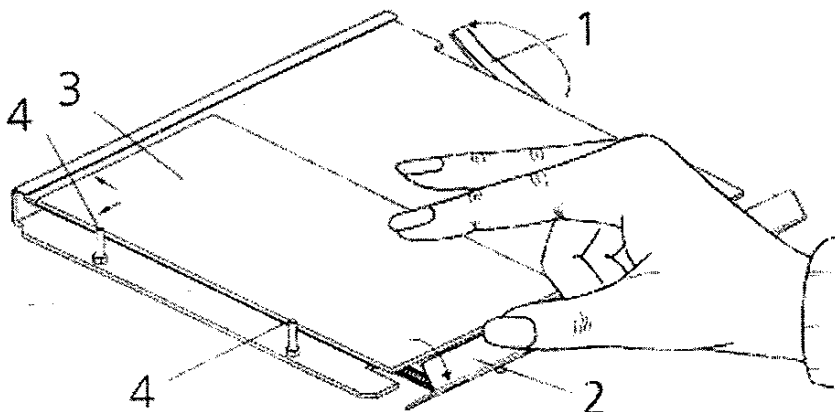
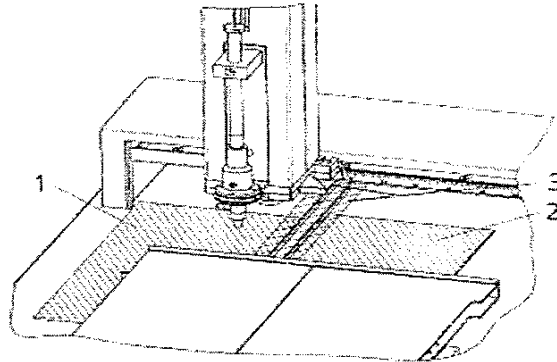


Plate stage 1 = plate stage lever, 2 = front ledge, 3 = TLC-plate, 4 = pin

การวาง Waste plate

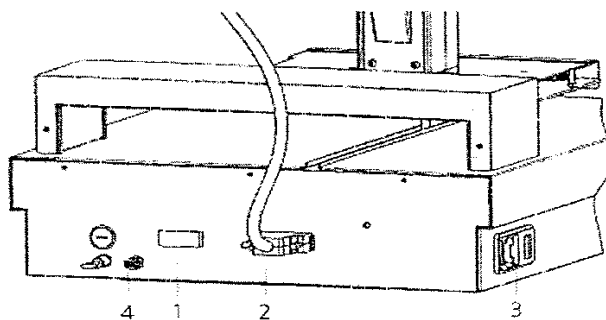
- วางแผ่น TLC เพื่อใช้เป็น waste plate บนเครื่อง ได้แทนวางในตำแหน่งที่ตรงกับหัวฉีด สำหรับการ predosing ก่อนการฉีดจริง



1, 2 = possible positions for waste plate, 3 = no spray area

การเปิดเครื่อง Linomat5

- เสียบปลั๊กไฟ เปิดสวิตช์ด้านข้างเครื่อง
- เปิดวาล์ว nitrogen ปรับความดันให้ได้ 4 bar
- เครื่องจะทำการตรวจเช็คตัวเอง เมื่อระบบเรียบร้อย หน้าจอจะแสดง “Instrument ready”



Connections 1 = RS232 interface, 2 = dosage turret connection, 3 = power switch and mains connection with fuse box, 4 = gas connection

การเตรียมการถ่ายภาพ TLC

1. เปิดสวิทช์ไฟด้านข้างของเครื่อง Reprostar
2. เปิดไฟฉายให้กล้องวิดีโอ คอมพิวเตอร์ และมอนิเตอร์
3. เลือกไฟที่ต้องการใช้ถ่ายภาพ UV 254, 366 หรือ White Light
4. วางแผนกำจัดแสงสะท้อนของ CAMAG (#022.9645) ไว้ใน Reprostar แล้ววางแผ่น TLC ที่ต้องการถ่ายภาพไว้ตรงกึ่งกลาง Reprostar
5. เปิดไฟที่ปุ่มสีดำหน้าของเครื่อง Reprostar

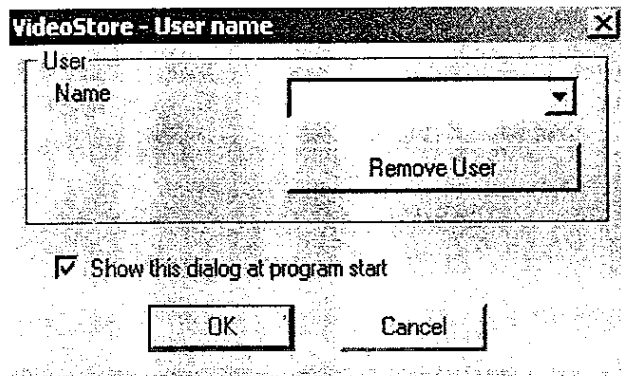
การถ่ายภาพโดยโปรแกรม Video Store

1. เปิดโปรแกรม Video Store ที่คลิกที่ Short cut Video Store



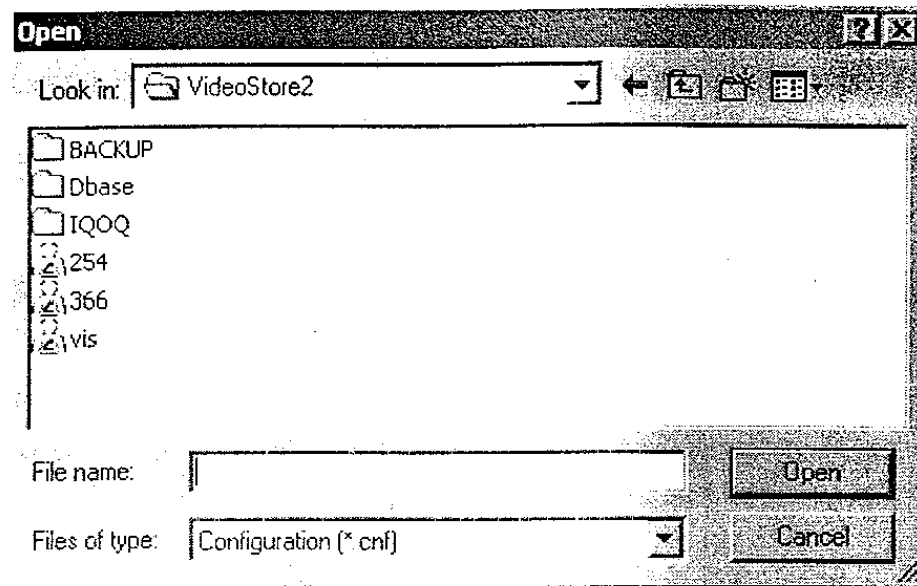
vidst32

2. หน้าจอแสดง



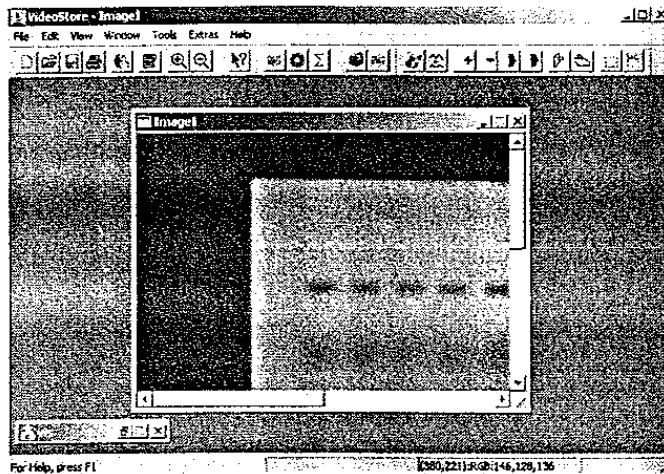
ให้พิมพ์ชื่อผู้ใช้งาน แล้วคลิก OK

- เปิด Configuration ที่ใช้งานให้เหมาะสมกับแสง UV 254, 366 หรือ vis



คลิก Configuration ที่ต้องการ

- ภาพจากกล้อง Video จะแสดงที่หน้าจอ



- ปรับแสง และ Focus ของกล้อง ให้ได้ภาพที่ชัดเจนที่สุด

6. คลิก Capturing เพื่อถ่ายภาพ



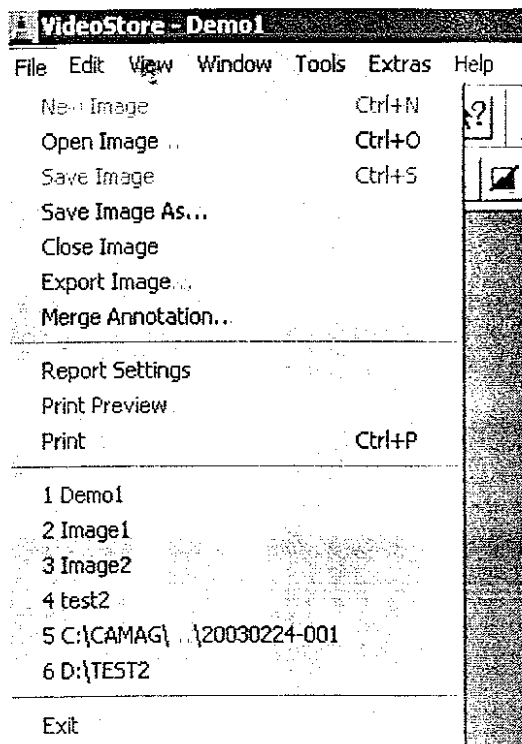
7. เมื่อถ่ายภาพแล้ว สามารถนำภาพไปปรับแต่ง เลือกเฉพาะส่วนที่สนใจ โดยใช้ Tool bar



8. สามารถพิมพ์เพิ่มเติม คำบรรยายประกอบ (Annotation) โดยใช้ Tool bar



9. Save ภาพ ลงใน cpf file ใน Harddisk โดยใช้ File / Save Image As



10. เมื่อต้องการ Print ให้คลิก File / Print สามารถดูภาพก่อน Print โดยใช้ File / Print Preview

ข้อแนะนำการปรับ Lens

1. ขนาดของภาพถ่ายและวัตถุ

เนื่องจากขนาดสัญญาณ Video มาตรฐานจากกล้อง Video สามารถถ่ายภาพได้ขนาดอัตราส่วน 4 : 3 ดังนั้นภาพจากวัตถุที่มีรูปทรงสี่เหลี่ยมจัตุรัส สามารถปรับได้เต็มหน้าจอเพียงด้านเดียว

ในระบบ CAMAG Video System สามารถถ่ายภาพขนาดของแผ่น TLC ได้ถึงขนาด 200x200 mm. โดยใช้ Zoom Len และ Close-up Len ที่ประกอบมากับเครื่อง Video Store

2. คำแนะนำการ Setting

- ใช้ close-up len +2 diopter ที่ระยะห่าง 50 cm จาก len ถึงแผ่น TLC โดยตั้ง zoom ที่ 9.5 mm. ขนาด format-filling ของภาพ จะได้ภาพขนาด 200x200 mm.
- การตั้งช่องรับแสง (aperture ring) ในเลนส์ของกล้อง Video ขึ้นอยู่กับแสงที่ใช้ถ่ายภาพ
- ห้ามปิดช่องรับแสงของกล้องหมด
- วิธีการขึ้นพื้นฐาน คือ ตั้ง F-stop number ไว้ที่มากที่สุดที่เป็นไปได้ และน้อยที่สุดเท่าที่จำเป็น โดยวางแผ่น TLC ลงใน Reprostar, จัดตำแหน่งให้ตรงกลาง โดยดูจากจอ Monitor เลือกปรับ focus ของภาพ โดยหมุน Distance Ring ให้ได้ภาพที่คมชัดที่สุด

3. การปรับแต่งค่าต่าง ๆ ของกล้อง Video

3.1 Shutter (ปิด-เปิดปากกล้อง)

- ควรตั้ง shutter ไว้ที่ switch off จะได้ระยะเวลาในการเปิดปากกล้องถ่ายภาพ (exposure time) เท่ากับ 20 ms. (CCIR) ถ้าภาพที่ได้สว่างเกินไป ให้เลือก F-stop number ที่มากขึ้น ถ้าภาพที่ได้ยังคงสว่างเกินไป ให้ลดระยะเวลาในการเปิดปากกล้อง (ดูที่ speed ของ shutter ใน appendix B)
- ถ้าภาพที่ได้มืดเกินไป ให้ใช้ Integration Time โดยเลื่อน Scroll Bar ใน Tool bar สำหรับ Integration time ไปทางขวา การเลื่อนแต่ละครั้งจะเพิ่ม exposure time ไป 40 ms. (CCIR) จะทำให้ภาพสว่างขึ้น

3.2 Speed (ความเร็ว shutter)

ถ้าต้องการลดเวลา exposure time ให้ดูวิธีการใน appendix B

3.3 Gamma (การปรับขนาดเขยสัญญาณอิเล็กทรอนิกส์ จากภาพที่ได้จากกล้อง กับจอ Monitor)

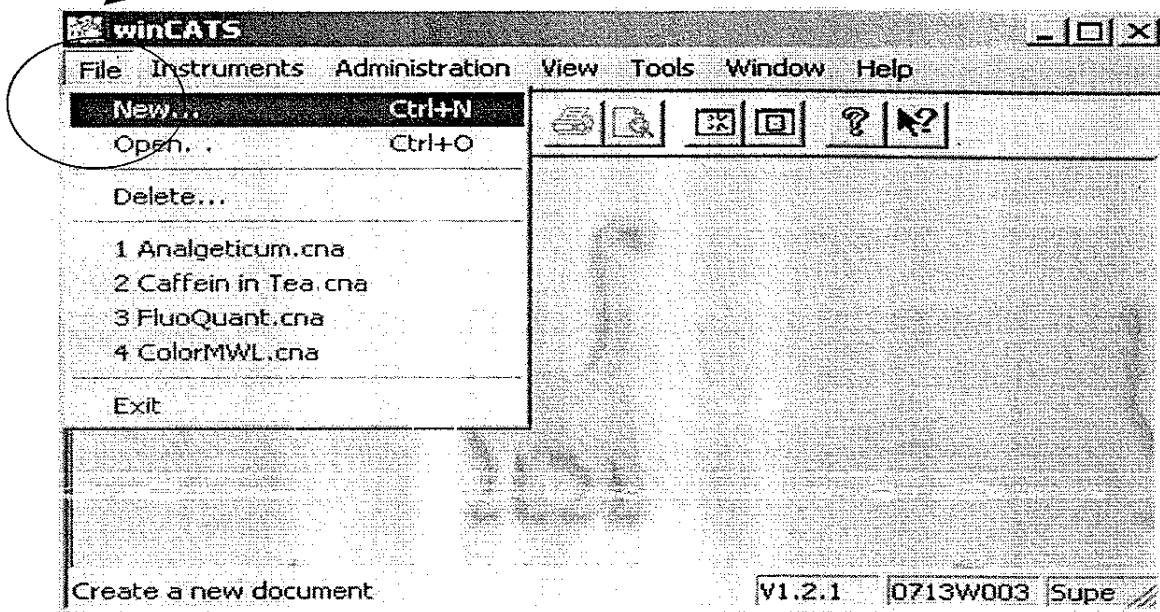
ต้องตั้งค่า Gamma = 1 (off) เสมอ

3.4 AGC (Automatic Gain Control)

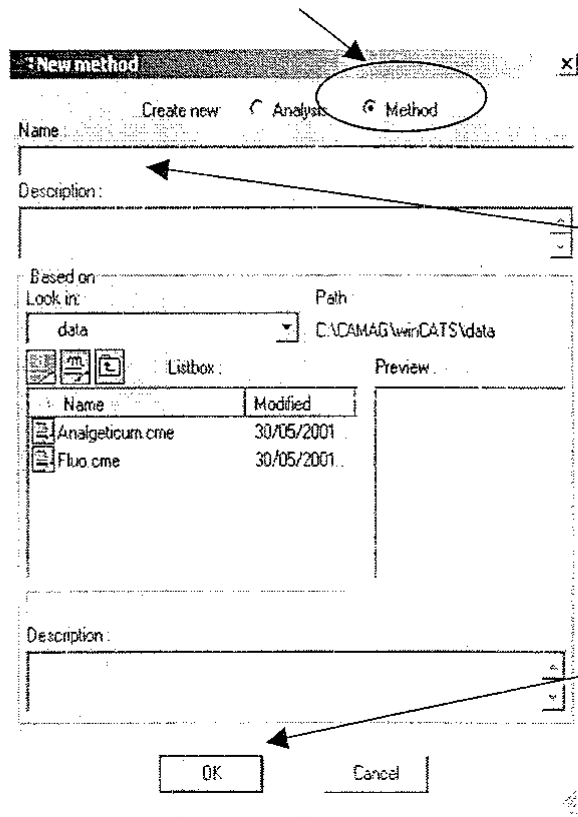
ให้ตั้งไว้ที่ OFF

การสร้าง Method ใหม่

1.เลือก File / New



2.คลิกที่ METHOD



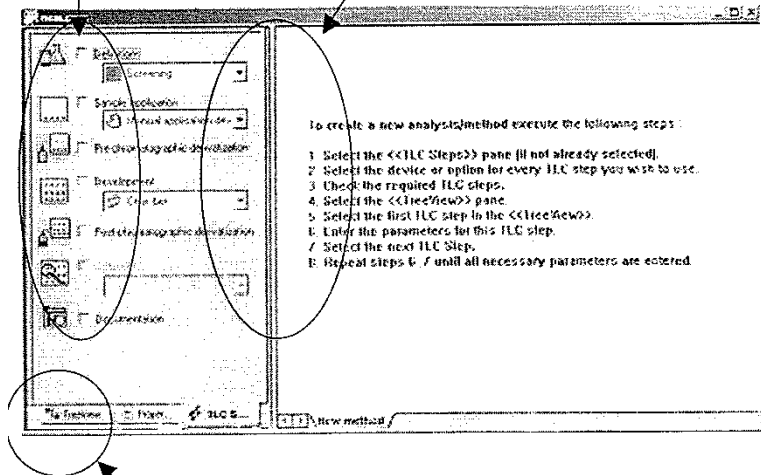
3.พิมพ์ชื่อmethod

4.คลิก OK

การกำหนดข้อมูล

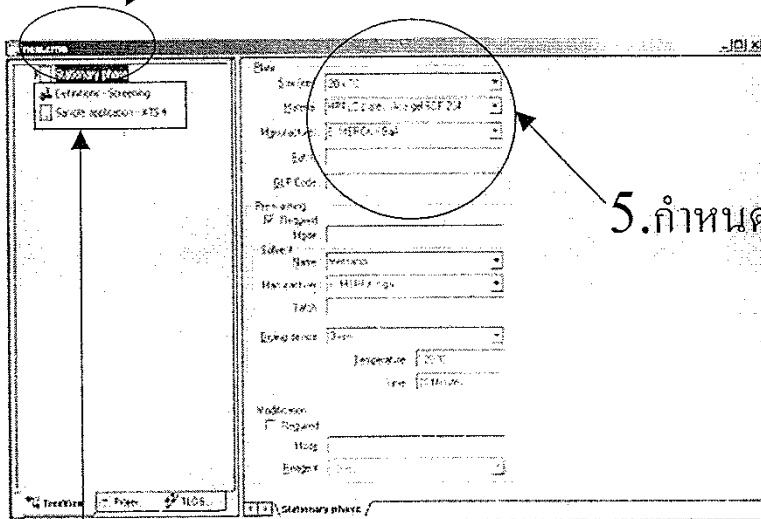
1. เลือกขั้นตอนที่ต้องการใช้งาน

2. คลิก ✓



3. คลิก TreeView Tap

4. เลือก Stationary phase



5. กำหนด TLC Plate ที่ใช้งาน

6. เลือกขั้นตอนการทำงานต่อไป

การกำหนดข้อมูลในการคำนวณ

1. เลือก Definition

2. กำหนดจำนวน sample

3. กำหนดจำนวน substance ที่ต้องการหาปริมาณ

4. เลือกวิธีการคำนวณ และกำหนด

5. เลือก sample tap

6. กำหนด ชื่อของ sample

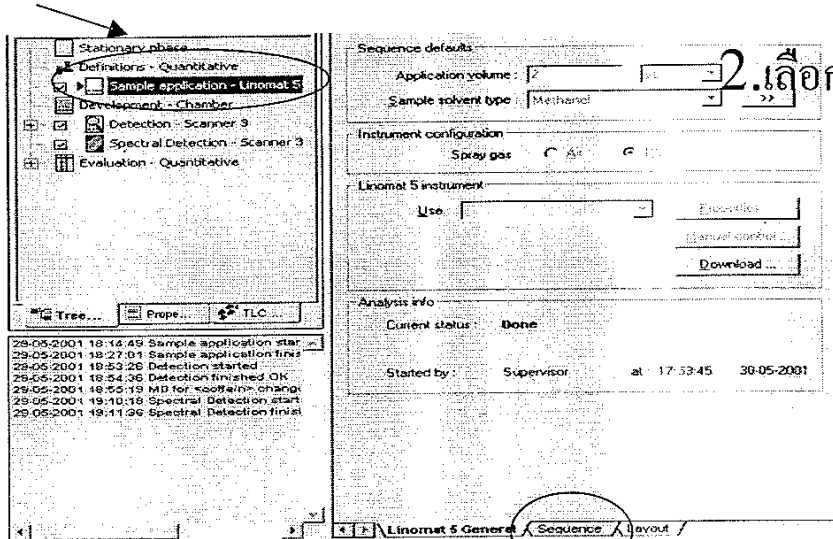
7. กำหนดชื่อ substance

Sample ID	Note
1	Sample 1
2	Sample 2

Substance name	Rf	Window size [mm]
1	0.14	1.000
2	0.29	1.000
3	0.46	1.000

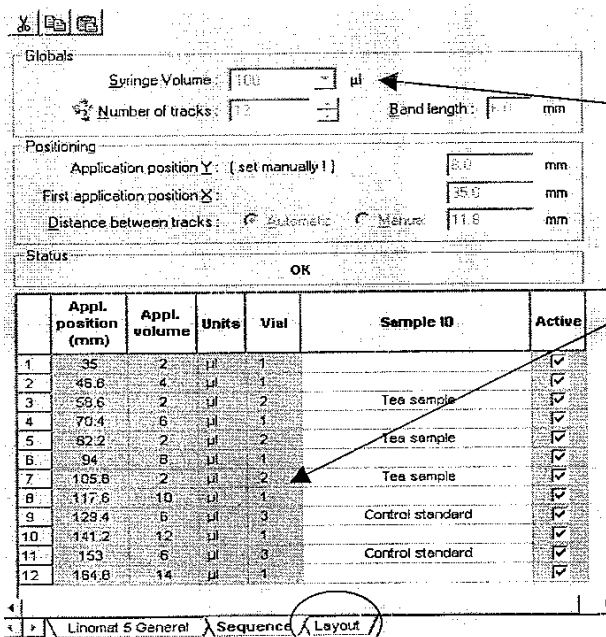
การกำหนดข้อมูล Linomat5

1.เลือก sample application.



2.เลือก solvent ที่ใช้งาน

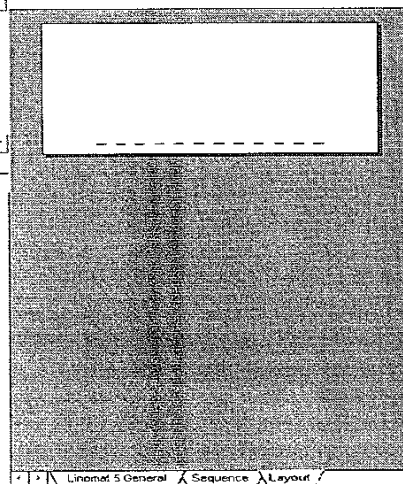
3.เลือก sequence tab



4.กำหนดขนาด Syringe และ band spot

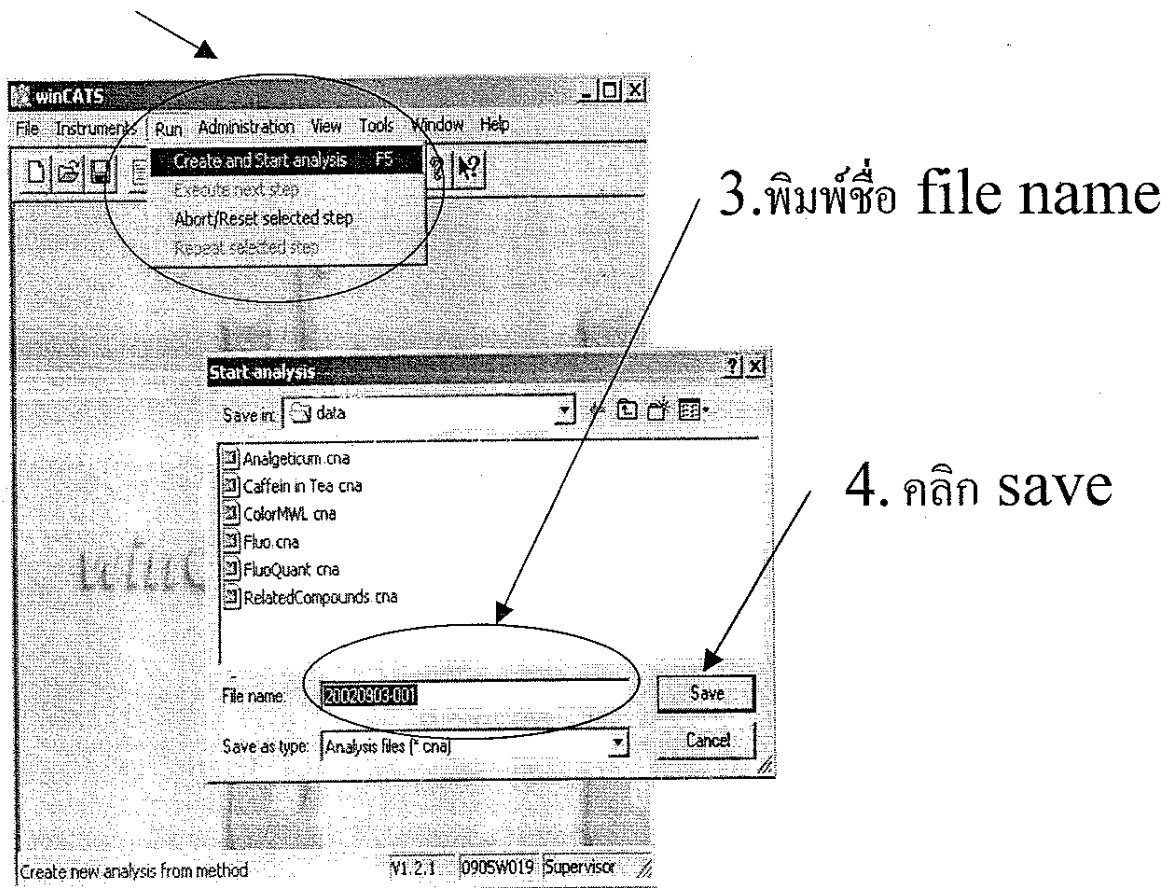
5.กำหนด ปริมาณ และ vial

6.เลือกLayout เพื่อดูตำแหน่ง



การใช้งาน Method

1. เมื่อสร้าง Method และกำหนดค่าต่างๆเรียบร้อยแล้ว สามารถทำงานได้ทันที
2. คลิก RUN/ create and start analysis



5. เมื่อ save anlysis แล้ว โปรแกรมจะทำงานตาม TLC Step ที่กำหนดไว้ จนจบการทำงาน

แนวทางการแก้ไขเมื่อมีปัญหาเกิดขึ้น

1. ติดต่อนักวิทยาศาสตร์ผู้ดูแลเครื่องมือ

คำเตือนและข้อควรระวังในการใช้

1. ในการใช้ Syringe ควรระมัดระวังเพราะอาจหักได้
2. ในการถ่ายภาพควรทำให้แผ่น TLC แห้งก่อนทุกครั้ง
3. ควรปิดแก๊ส ทุกครั้งหลังใช้งาน
4. หลังใช้งานควรตรวจสอบดูความเรียบร้อยทุกครั้ง

การควบคุมมาตรฐานและการดูแลรักษาเครื่องมือ

1. ควรล้าง Syringe ให้สะอาดทุกครั้งหลังใช้งาน
2. ระวังสารละลายหกลงใส่เครื่องมือ