

## ภาคผนวก

สารเคมีและการเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์

### 1. น้ำยาสกัดเอนไซม์ (extraction buffer)

สารที่ใช้เป็นน้ำยาสกัดเอนไซม์ คือ Tris (hydroxymethyl) aminomethane หรือ Tris-buffer

0.2 M pH 8.4

0.2 M Tris (hydroxymethyl) aminomethane 100 มิลลิลิตร

0.2 M HCl 100 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียมทำโดยการนำ 0.2 M Tris ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมกับ 0.2 M HCl ปริมาตร 16.5 มิลลิลิตร และปรับ pH ด้วย 0.2 M HCl ให้ได้ pH 8.4 หลังจากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 200 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

### 2. สารเคมีที่ใช้เป็นส่วนประกอบของ separating gel 8.5 %

สารเคมีที่ใช้เป็นส่วนประกอบแสดงไว้ในตารางข้างล่างนี้

ตารางภาคผนวก 1 ส่วนผสมสำหรับการเตรียม separating gel 8.5 %

Stock solution	separating gel 8.5 %
น้ำกลั่น	9.7 มิลลิลิตร
1.5 M Tris – HCl pH 8.8	5 มิลลิลิตร
acrylamide 30 %	5 มิลลิลิตร
APS 10 % (เตรียมก่อนใช้)	200 ไมโครลิตร
TEMED	10 ไมโครลิตร

เตรียม separating gel ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น กับ 3 M Tris pH 8.8 และ acrylamide 30 % เข้าด้วยกัน แล้วค่อย ๆ เติม APS 10 % และ TEMED คนให้เข้ากัน จากนั้นนำมาเทลงระหว่างแผ่นกระจกที่เตรียมไว้ ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ

### 3. สารเคมีที่ใช้เป็นส่วนประกอบของ sample buffer คือ glycerol 10 % และ bromophenol blue 0.5 %

4. สารเคมีที่ใช้เป็น running buffer คือ Tris 3 กรัม และ Glycine 14.4 กรัม  
เตรียมสารละลายโดยละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกันแล้วเติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้  
500 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
5. สารเคมีที่ใช้ในการย้อมเอนไซม์

5.1 Acid phosphatase (ACP)

acetate buffer pH 6.0	100	มิลลิลิตร
fast garnet GBC diasodium salt	50	มิลลิกกรัม
disodium $\alpha$ - naphthyl phosphate	25	มิลลิกกรัม

5.2 Esterase (EST)

phosphate buffer pH 6.0	100	มิลลิลิตร
fast blue B - salt	0.15	กรัม
$\alpha$ - naphthyl acetate	0.003	กรัม

5.3 Peroxidase (POX)

Tris-HCl 0.1 M pH 4.0	80	มิลลิลิตร
3 - amino - 9 - ethylcarbazole	0.042	กรัม
$\beta$ - naphthol	0.029	กรัม
3 % $H_2O_2$	100	ไมโครลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 2 ตารางแสดงค่า Proximity Matrix ของไบออน

		Squared Euclidean Distance				
Case		1	2	3	4	5
1		0.000	6.000	6.000	6.000	6.000
2		6.000	0.000	2.000	2.000	2.000
3		6.000	2.000	0.000	0.000	0.000
4		6.000	2.000	0.000	0.000	0.000
5		6.000	2.000	0.000	0.000	0.000

This is a dissimilarity matrix

ตารางภาคผนวกที่ 3 ตารางแสดงค่า Proximity Matrix ของใบที่เจริญเติบโตเต็มที่

Squared Euclidean Distance					
Case	1	2	3	4	5
1	0.000	0.000	0.000	3.000	5.000
2	0.000	0.000	0.000	3.000	5.000
3	0.000	0.000	0.000	3.000	5.000
4	3.000	3.000	3.000	0.000	2.000
5	5.000	5.000	5.000	2.000	0.000

This is a dissimilarity matrix

ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์การติดฝัก

SOV	DF	SS	MS	F	P
Treatment	7	53,271.58	7610.22	4.06	0.008
Error	71	132,803.91	1870.47		
Total	78	186,075.49			

CV = 59.27 %

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved

## ประวัติผู้เขียน

- ชื่อ - สกุล นางสาวจารุภัทร ประระราศรี
- วัน เดือน ปี เกิด 4 กันยายน 2522
- ประวัติการศึกษา
- ปีการศึกษา 2540 สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนศรีราชา อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี
  - ปีการศึกษา 2544 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ (พืชสวนประดับ) มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่
- ที่อยู่ปัจจุบัน 41/96 หมู่ 1 ตำบลสุรศักดิ์ อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี 20110  
โทรศัพท์ 0-3832-5264 , 0-9094-2855  
E-mail address : kung410@hotmail.com หรือ kung\_410@yahoo.com

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved