

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Chiang Mai University

**ภาคผนวก**

### การเตรียมสารเคมีในการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

#### 1. การเตรียม extraction buffer

Tris buffer 0.1 M pH 8.4

stock A : 0.1 M tris ( hydroxymethyl ) aminomethane ( 12.1 กรัม / 1,000 มิลลิลิตร )

stock B : 0.1 M HCl ( 9.85 มิลลิลิตร / 1,000 มิลลิลิตร )

stock C : stock A 50 มิลลิลิตร + stock B 16.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ครบ 200 มิลลิลิตร  
ที่ pH 8.4

#### 2. การเตรียม electrode buffer pH 8.3 ( x 10 )

tris	6.0	กรัม
------	-----	------

glycine	28.8	กรัม
---------	------	------

ละลายให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ที่ pH 8.3 เก็บไว้ในที่มืด

#### 3. การเตรียมส่วนประกอบของเจล

##### 3.1 tris-chloride buffer pH 8.9

HCl	48	มิลลิลิตร
-----	----	-----------

tris	36.6	กรัม
------	------	------

ละลายให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร ที่ pH 8.9 เก็บไว้ในที่มืด

##### 3.2 tris-chloride buffer pH 6.7

HCl 1 N	48	มิลลิลิตร
---------	----	-----------

Tris	5.98	กรัม
------	------	------

ละลายให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร ที่ pH 6.7 เก็บไว้ในที่มืด

##### 3.3 acrylamide stock

acrylamide	29.2	กรัม
------------	------	------

N,N'-methylene bis crylamide	0.8	กรัม
------------------------------	-----	------

ละลายให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร กรอง และเก็บไว้ในที่มืด

##### 3.4 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> solution ( เตรียมใหม่ทุกครั้ง และเก็บไว้ใช้ได้ 1 อาทิตย์ )

(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	0.1	กรัม
---	-----	------

น้ำกลั่น	1.0	มิลลิลิตร
----------	-----	-----------

Monomer Concentration ( 30 % T, 2.67 % C Stock )	Running gel ( 0.375 M Tris, pH 8.8 )			Stacking gel 4 %
	7.5 %	10 %	12 %	
Acrylamide	12.50 ml	16.65 ml	20.00 ml	2.6 ml
น้ำกลั่น	24.25 ml	20.10 ml	16.75 ml	12.2 ml
1.5 M Tris-HCl, pH 8.8	12.50 ml	12.50 ml	12.50 ml	-
0.5 M Tris-HCl, pH 6.8	-	-	-	5 ml
10 % ammonium persulfate	250 $\mu$ l	250 $\mu$ l	250 $\mu$ l	100 $\mu$ l
TEMED	25 $\mu$ l	25 $\mu$ l	25 $\mu$ l	20 $\mu$ l

#### 4. การเตรียม marker dye solution

bromphenol blue	0.05	กรัม
tris buffer จากข้อ 3.1	10	มิลลิลิตร
glycerol	1	มิลลิลิตร

#### 5. การเตรียม acetate buffer 0.5 M pH 4.8

stock A : 0.5 M solution of acetic acid ( 28.875 มิลลิลิตร ใน 1,000 มิลลิลิตร )

stock B : 0.5 M solution of sodium acetate ( 41 กรัม ของ  $C_2H_3O_2Na$  หรือ 68 กรัม ของ  $C_2H_3O_2Na \cdot 3H_2O$  กรัม ใน 1,000 มิลลิลิตร )

นำ stock A 20.0 มิลลิลิตร ผสมกับ stock B 30.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร ที่ pH 4.8 เก็บไว้ในที่มืด

#### 6. การเตรียม phosphate buffer 0.1 M pH 6.0

stock A : 0.1 M monobasic potassium phosphate (  $KH_2PO_4$  ) 13.6 กรัม / 1,000 มิลลิลิตร

stock B : 0.1 M dibasic potassium phosphate (  $K_2HPO_4$  ) 17.9 กรัม / 1,000 มิลลิลิตร

นำ stock A 87.7 มิลลิลิตร ผสมกับ stock B 12.3 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ครบ 200 มิลลิลิตร ที่ pH 6.0

## 7. การเตรียมสีย้อมเอนไซม์

## 7.1 acid phosphatase

1. acetate buffer 0.5 M pH 4.8	150.0	มิลลิลิตร
2. fast blue-B salt	150.0	มิลลิกรัม
3. 1% -naphthyl acid phosphate ( monosodiumsalt )	150.0	มิลลิกรัม
4. MgCl <sub>2</sub> 10 %	10	หยด

นำสารในข้อ 1, 2 และ 3 ละลายให้เข้ากัน กรองในที่มืดแล้วเติมสารละลายในข้อ 4 ลงไป

## 7.2 esterase

1. phosphate buffer 0.1 M pH 6.0	150.0	มิลลิลิตร
2. fast blue-B salt	225.0	มิลลิกรัม
3. 1% naphthyl acetate ใน absolute alcohol	4.5	มิลลิลิตร

นำสารในข้อ 1 และ 2 ละลายให้เข้ากัน กรองในที่มืด แล้วเติมสารในข้อ 3 ลงไป

## 7.3 peroxidase

stock A : 3 amino-9 ethylcarbazole	420.0	มิลลิกรัม
β-naphthol	290.0	มิลลิกรัม
acetone	200.0	มิลลิลิตร

ละลายให้เข้ากัน แล้วเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ

stock B : tris buffer 0.1 M pH 4.0		
tris-hydroxymethyl aminomethane	3.78	กรัม
acetic acid	4.05	มิลลิลิตร

ละลายให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 2.5 ลิตร ที่ pH 4.0 เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ

stock C : H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3 %		
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 30 %	10.0	มิลลิลิตร

เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)

นำ stock A : stock B : stock C ในอัตราส่วน 20 : 80 : 1 ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

### การเตรียม Hoagland's solution

การเตรียมสารละลายเข้มข้น ( stock solution )

stock 1 :  $\text{KNO}_3$  101.11 กรัม

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  27.21 กรัม

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  98.60 กรัม

ละลายให้เข้ากัน เติมน้ำให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา

stock 2 :  $\text{CaNO}_3$  295.18 กรัม

ละลายให้เข้ากัน เติมน้ำให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา

stock 3 :  $\text{H}_3\text{BO}_3$  0.71 กรัม

$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0.45 กรัม

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05 กรัม

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.02 กรัม

$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.02 กรัม

ละลายให้เข้ากัน เติมน้ำให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา

stock 4 :  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  13.9 กรัม

$\text{Na}_2\text{EDTA}$  1.86 กรัม

ละลาย  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  ตามปกติ ส่วน  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ละลายในน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ผสมสารละลายทั้งสองให้เข้ากัน เติมน้ำให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลาย ( working stock ) สำหรับใช้จริง 1,000 มิลลิลิตร

stock 1 4 มิลลิลิตร

stock 2 5 มิลลิลิตร

stock 3 4 มิลลิลิตร

stock 4 4 มิลลิลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน ( Analysis of variance ) ของผักกาดขาวปลีที่  
ปลูกในแปลงทดลอง ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ตารางภาคผนวกที่ 1.1 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักปลีก่อนตัดแต่งของผักกาดขาวปลี

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
T (A)	13	9.8118E+05	7.5475E+04	11.53	0.0000
R (B)	2	6852.8	3426.4	0.52	0.5986
A*B	26	1.7018E+05	6545.4		
TOTAL	41	1.1582E+06			
GRAND AVERAGE	1	6.7440E+07			
LSD 0.05 % = 135.78					

ตารางภาคผนวกที่ 1.2 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักปลีหลังตัดแต่งของผักกาดขาวปลี

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
T (A)	13	5.1377E+05	3.9521E+04	13.17	0.0000
R (B)	2	1.0195E+04	5097.5	1.70	0.2025
A*B	26	7.8000E+04	3000.0		
TOTAL	41	6.0197E+05			
GRAND AVERAGE	1	2.1517E+07			
LSD 0.05 % = 91.926					

ตารางภาคผนวกที่ 1.3 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลผลิตต่อไร่ของผักกาดขาวปลี

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
T (A)	13	2.1044E+07	1.6188E+06	13.17	0.0000
R (B)	2	4.1759E+05	2.0879E+05	1.70	0.2025
A*B	26	3.1949E+06	1.2288E+05		
TOTAL	41	2.4657E+07			
GRAND AVERAGE	1	8.8135E+08			
LSD 0.05 % = 588.33					

ตารางภาคผนวกที่ 1.4 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความแน่นป्लीของผักกาดขาวป्ली

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
T (A)	13	1.5828E-01	1.2175E-02	12.43	0.0000
R (B)	2	6.2210E-03	3.1105E-03	3.18	0.0583
A*B	26	2.558E-02	9.7917E-04		
TOTAL	41	1.8996E-01			
GRAND AVERAGE	1	9.4943			
LSD 0.05 % = 5.2518E-02					

ตารางภาคผนวกที่ 1.5 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความกว้างของป्लीของผักกาดขาวป्ली

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
T (A)	13	23.196	1.7843	16.93	0.0000
R (B)	2	5.0208E-01	2.5104E-01	2.38	0.1122
A*B	26	2.7396	1.0537E-01		
TOTAL	41	26.438			
GRAND AVERAGE	1	6951.1			
LSD 0.05 % = 5.4480E-01					

ตารางภาคผนวกที่ 1.6 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวของป्लीของผักกาดขาวป्ली

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
T (A)	13	18.996	1.4612	8.90	0.0000
R (B)	2	1.1704E-01	5.8521E-02	0.36	0.7035
A*B	26	4.2684	1.6417E-01		
TOTAL	41	23.381			
GRAND AVERAGE	1	1.2680E+04			
LSD 0.05 % = 6.8003E-01					

ตารางภาคผนวกที่ 1.7 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าดัชนีรูปร่างปลีของผักกาดขาวปลี

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
T (A)	13	4.0236E-01	3.0951E-02	15.01	0.0000
R (B)	2	7.4269E-03	3.7134E-03	1.80	0.1852
A*B	26	5.3625E-02	2.0625E-03		
TOTAL	41	4.6341E-01			
GRAND AVERAGE	1	77.222			
LSD 0.05 % = 7.6221E-02					

ตารางภาคผนวกที่ 1.8 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความกว้างของลำต้นของผักกาดขาวปลี

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
T (A)	13	2.8497	2.1921E-01	14.07	0.0000
R (B)	2	5.6033E-02	2.8017E-02	1.80	0.1856
A*B	26	4.0510E-01	1.5581E-02		
TOTAL	41	3.3108			
GRAND AVERAGE	1	311.33			
LSD 0.05 % = 2.0949E-01					

ตารางภาคผนวกที่ 1.9 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวของลำต้นของผักกาดขาวปลี

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
T (A)	13	10.213	7.8563E-01	48.42	0.0000
R (B)	2	1.6376E-02	8.1881E-03	0.50	0.6095
A*B	26	4.2182E-01	1.6224E-02		
TOTAL	41	10.651			
GRAND AVERAGE	1	363.97			
LSD 0.05 % = 2.1378E-01					



ตารางภาคผนวกที่ 1.10 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าดัชนีรูปร่างลำต้นของผักกาดขาวปลี

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
T (A)	13	2.0253	1.5579E-01	29.83	0.0000
R (B)	2	2.1042E-02	1.0521E-02	2.01	0.1537
A*B	26	1.3578E-01	5.2222E-03		
TOTAL	41	2.1821			
GRAND AVERAGE	1	50.448			
LSD 0.05 % = 1.2128E-01					

ตารางภาคผนวกที่ 1.11 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์การตัดแต่งของผักกาดขาวปลี

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
T (A)	13	2526.20	194.323	6.79	0.0000
R (B)	2	112.056	56.0281	1.96	0.1613
A*B	26	743.783	28.6070		
TOTAL	41	3382.01			
GRAND AVERAGE	1	77802.9			
LSD 0.05 % = 8.9767					

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นายเอกพจน์ พัดชมภาพ  
วัน เดือน ปี เกิด 15 สิงหาคม 2517  
ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนตะพานหิน พิจิตร  
ปีการศึกษา 2534  
สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)  
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2538