

ภาคผนวก ก

ตารางภาคผนวกที่ 1 อุณหภูมิเฉลี่ยของตู้ทดลองที่ใช้ในการศึกษาผลของความยาววันต่อการเจริญเติบโตและออกดอกของอังกาบ (7/ต.ค./42-30/ธ.ค./42)

วัน/เดือน/ปี	อุณหภูมิ °C										
	ภายนอก			ตู้ที่1		ตู้ที่2		ตู้ที่3		ตู้ที่4	
	max.	min.	mean	max.	min.	max.	min.	max.	min.	max.	min.
7/10/42	34.4	22.5	27.6	35.0	22.5	37.0	22.5	34.4	22.5	34.5	22.5
14/10/42	34.4	22.9	27.8	35.5	23.0	37.0	23.0	34.4	22.0	35.2	23.0
21/10/42	33.5	22.4	27.2	34.5	22.5	36.5	23.0	33.5	22.5	34.6	23.0
28/10/42	33.8	23.0	27.6	35.5	23.0	36.5	23.0	33.8	23.0	34.8	23.0
4/11/42	34.6	23.7	28.4	35.0	24.0	36.0	24.0	34.6	23.0	35.4	24.0
11/11/42	33.8	23.4	27.9	36.0	23.5	35.5	24.0	33.8	23.5	34.2	23.5
18/11/42	32.5	22.9	27.0	34.5	23.0	35.5	23.0	32.5	22.5	34.0	23.0
25/11/42	34.6	22.8	27.9	34.5	23.0	39.0	23.0	34.6	22.5	35.5	23.0
2/12/42	34.4	22.0	27.3	34.5	22.0	38.0	22.0	34.4	22.0	35.5	22.0
9/12/42	32.5	21.8	26.4	35.5	21.0	35.5	22.0	32.5	21.0	33.0	22.0
16/12/42	32.0	21.9	26.2	34.0	23.0	35.0	22.0	32.0	21.5	34.0	22.0
23/12/42	29.5	22.9	25.7	31.5	23.0	33.5	23.0	29.5	23.5	30.0	23.0
30/12/42	31.5	20.0	24.9	32.5	21.0	34.5	20.0	31.5	20.0	32.0	20.0

ตารางภาคผนวกที่ 3 อุณหภูมิที่ใช้ในการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตและออกดอกของอังกาบ

วัน/เดือน/ปี	ห้องที่ 1			ห้องที่ 2			ห้องที่ 3		
	min	max	room	min	max	room	min	max	room
20/เม.ย./42	21	27	25	25	30	28	23.2	36	28.7
27/เม.ย./42	21	28	25.5	25	30.5	29	26.2	38	31.3
4/พ.ค./42	27	29	25	29	29.5	27	24.5	36.6	29.7
11/พ.ค./42	21.5	27	25	25	31	28	22.2	31.6	26.2
18/พ.ค./42	21	28.5	25	25	28	28	23	24.9	23.9
25/พ.ค./42	20.5	27	25	25	28.5	27	23.3	24.4	22.5
1/มิ.ย./42	21	28	25	25	32	27.5	22.5	23.5	23
8/มิ.ย./42	20.5	26.5	25	25.5	31	27.5	22.5	23.3	23
15/มิ.ย./42	20.5	29	25	25.5	28.5	28	20.5	23.4	21.9
22/มิ.ย./42	20.5	28	25	25	30	29	22	24	22.7
29/มิ.ย./42	20	29	25	25	29	28	22	24	23

ตารางภาคผนวกที่ 2 ความเข้มแสงของโรงเรียนพรางแสงที่ใช้ในการศึกษาผลของความเข้มแสง  
ต่อการเจริญเติบโตและออกดอกของอังกาบ

วัน/เดือน/ปี	โรงเรียนที่ 1	โรงเรียนที่ 2	โรงเรียนที่ 3	โรงเรียนที่ 4
1/ก.ย./43	53,000	30,500	2,000	1,000
8/ก.ย./43	45,000	25,000	2,000	1,000
15/ก.ย./43	60,500	50,000	13,000	3,000
22/ก.ย./43	41,000	26,000	11,500	1,400
29/ก.ย./43	55,000	35,000	14,000	4,000
6/ต.ค/43	65,000	37,500	6,600	2,000
13/ต.ค/43	20,400	13,000	4,625	1,500
20/ต.ค/43	50,000	27,000	6,000	2,000
27/ต.ค/43	55,000	27,250	5,000	1,400
3/ต.ค/43	50,000	25,000	4,700	1,750
10/ต.ค/43	38,500	9,000	1,400	800
17/ต.ค/43	8,300	4,500	1,450	800
24/ต.ค/43	9,500	4,500	1,500	800
1/พ.ย./43	8,500	2,000	1,000	400

## ภาคผนวก ข

## 1. การเตรียมน้ำยาหยุดดวงชีพเซลล์ (pre-treatment)

p-dichlorobenzene	10 g
น้ำ	500 ml

ผสม p-dichlorobenzene และน้ำ ทิ้งไว้ 1 คืน แล้วนำมาคนให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วย magnetic stirrer ที่ 60 °ซ

## 2. การเตรียมน้ำยารักษาสภาพเซลล์

absolute ethanol	3 ส่วน	glacial acetic acid	1 ส่วน
------------------	--------	---------------------	--------

## 3. การเตรียมน้ำยาแยกเซลล์

hydrochloric acid	1 N
-------------------	-----

## 4. การเตรียมสีย้อม

## 2.1 lacto-propionic orcein

lacto-propionic orcein	2 g	lactic acid	50 ml
propionic acid	50 ml		

ผสม สารทั้งหมดให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 1 คืน นำมากรอง เวลาใช้ผสมกับน้ำในอัตราส่วน น้ำ:สีย้อม 55-40: 45-60 แล้วนำมากรองอีกครั้งหนึ่ง

## 5. สูตรอาหารเหลวเลี้ยงตะกอนกसर

## Stock mineral solution

H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.10 g	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.30 g
MgSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0.20g	KNO <sub>3</sub>	0.10g
น้ำ	100 ml		

## Culture solution

Stock mineral solution 1.0 ml

Sucrose	0.02g, 0.04g, 0.06g, 0.08g, 0.10 g
น้ำ	9.0 ml

## ภาคผนวก ค

## การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ

การเตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock solution)

การเตรียมธาตุอาหารหลัก

เตรียมธาตุอาหารหลักที่ใช้ในสูตร MS (1962) ความเข้มข้น 10X โดยชั่งสารแต่ละชนิดดังตารางภาคผนวกที่ 4 ละลายสารแต่ละชนิดในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 1,000 มล. แล้วเทใส่ขวดเก็บสารละลายเข้มข้นปิดฝาเก็บในตู้เย็น ส่วนธาตุอาหารหลักที่ใช้ในสูตร VW (1949) คัดแปลงความเข้มข้น 10X โดยชั่งสารละลายแต่ละชนิดดังตารางภาคผนวกที่ 5

ตารางภาคผนวกที่ 4 ชนิดและปริมาณสารในสารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารหลักสูตร MS

ชนิดสาร	ปริมาณสารในสูตร MS (1962) (มก/ล)	ปริมาณสารในน้ำยาความเข้มข้น 10X (ก/ล)
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1650	16.50
$\text{KNO}_3$	1900	19.00
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440	4.40
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	3.70
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	170	1.70

ตารางภาคผนวกที่ 5 ชนิดและปริมาณสารในสารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารหลักสูตร VW (1949) คัดแปลง

ชนิดสาร	ปริมาณสารในสูตร VW (1962) (มก/ล)	ปริมาณสารในน้ำยาความเข้มข้น 10X (ก/ล)
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	151	1.51
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	250	2.50
$\text{KNO}_3$	525	5.25
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250	2.50
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	500	5.00

### การเตรียมธาตุอาหารรอง

การเตรียมธาตุอาหารรองสูตร MS (1962) โดยทำเป็นสารละลายเข้มข้นรวมไว้ในขวดเดียวกันให้ความเข้มข้นของสารมากกว่าที่แท้จริง 100 เท่า (100X) เตรียมน้ำยาให้มีปริมาตรสุดท้าย 1,000 มล. โดยใช้น้ำหนักของสารดังกล่าวต่อไปนี้ (ตารางภาคผนวกที่ 6)

ตารางภาคผนวกที่ 6 ชนิดและปริมาณสารในสารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารรองสูตร MS (1962)

ชนิดสาร	ปริมาณสารในสูตร MS (1962) (มล/ล)	ปริมาณสารในสูตร MS (1962) 100X (มล/ล)
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025	2.5
KI	0.83	83
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.60	860
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.30	2,230
$\text{H}_3\text{BO}_4$	6.20	620
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25	25
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025	2.5

### การเตรียมสารอินทรีย์

การเตรียมสารอินทรีย์สูตร MS (1962) ทำเป็นสารละลายเข้มข้น รวมไว้ในขวดเดียวกัน ความเข้มข้นของสารมากกว่าที่แท้จริง 100 เท่า เตรียมน้ำยาให้มีปริมาตรสุดท้ายคือ 1,000 มล. โดยใช้น้ำหนักของสารดังกล่าวต่อไปนี้ (ตารางภาคผนวกที่ 7)

ตารางภาคผนวกที่ 7 ชนิดและปริมาณสารในสารละลายเข้มข้นของสารอินทรีย์สูตร MS (1962)

ชนิดสาร	ปริมาณสารในสูตร MS (1962) (มล/ล)	ปริมาณสารในน้ำยาความเข้มข้น 100X (มล/ล)
Glycine	2.00	200
Thiamine.HCl	0.25	25
Pyridoxine.HCl	0.25	25
Nicotinic acid	0.25	25
Myo-inositol	100	10,000

การเตรียมสารละลายเหล็กเข้มข้น

เตรียม FeEDTA สูตร MS (1962) ซึ่งประกอบด้วย  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  และ  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  โดยทำเป็นสารละลายเข้มข้นของสารมากกว่าที่ใช้จริง 100× เตรียมน้ำยาให้มีปริมาตรสุดท้าย 1,000 มล ทำการเตรียมโดยชั่งสารแต่ละชนิดละลายน้ำให้มีปริมาตรสุดท้ายของแต่ละส่วนเป็น 500 มล (ตารางภาคผนวกที่ 8) แล้วจึงนำมาผสมไว้ในขวดเดียวกันโดยเก็บไว้ในขวดสีชาเพื่อป้องกันแสง

ตารางภาคผนวกที่ 8 ชนิด และปริมาณสารในสารละลายเข้มข้นของเหล็กสูตร MS (1962)

ชนิดสาร	ปริมาณสารในสูตร MS (1962) (มล)	ปริมาณสารในน้ำยาเข้มข้น 100× (ก/ล)
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8	278
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37.3	373

การเตรียมอาหารพื้นฐานสูตร MS (1962)

นำส่วนประกอบของอาหารพื้นฐานสูตร MS (1962) จากน้ำยาเข้มข้นที่เตรียมไว้ในข้อ 4 มาผสมให้เข้ากัน โดยใช้สารละลายเข้มข้นแต่ละชนิดดังที่แสดงไว้ในตารางภาคผนวกที่ 9 ขั้นตอนการเตรียมสูตรอาหาร MS (1962) ทำดังนี้

1. ใส่น้ำกลั่นลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มล ประมาณ 1/3 ของขวดแล้วเติมสารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารหลักลงไปทีละชนิด
2. เติมสารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารรอง สารอินทรีย์ เหล็ก และสารควบคุมการเจริญเติบโตลงไป ตามลำดับ โดยเขย่าขวดให้น้ำยาผสมกันดีระหว่างแต่ละครั้งที่เติม
3. ละลายน้ำตาลใส่ลงไป แล้วจึงเติมน้ำกลั่นลงไปจนปริมาตรสุดท้ายเป็น 1,000 มล
4. เทสารละลายลงในบีกเกอร์ขนาด 2,000 มล จากนั้นนำไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้โดยใช้ 1N HCL และ 1N KOH
5. ใส่วุ้นลงในอาหารแล้วนำไปต้มจนวุ้นละลาย
6. เตรียมใส่หลอดทดลองขนาด 25X150 มม ปริมาตร 10 มล/หลอด แล้วปิดปากหลอดด้วยแผ่นพลาสติก และกระดาศลอกถ่ายแล้ววัดด้วยยางรัดของ
7. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 15 ป (ปอนด์)/ น<sup>2</sup>(ตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

ตารางภาคผนวกที่ 9 ส่วนประกอบของสารละลายเข้มข้นแต่ละชนิด ในอาหารสูตร MS (1962)

ชนิดของสารละลาย	ปริมาณสารละลายเข้มข้นในอาหาร 1 ลิตร (มล)
สารละลายธาตุอาหารหลักความเข้มข้น 10X	100
สารละลายธาตุอาหารรองความเข้มข้น 10X	10
สารละลายสารอินทรีย์ความเข้มข้น 100X	10
สารละลายเหล็กความเข้มข้น 100X	10
น้ำมะพร้าว	100
เคซีนไฮโดรไลเสท	500 มล/ล
น้ำตาลซูโครส (น้ำหนัก/ปริมาตร)	20 ก/ล
ผงวุ้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	8 ก/ล

การเตรียมอาหารพื้นฐานสูตร VW (1949) คัดแปลง

1. นำขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มล ใส่น้ำกลั่นลงไปประมาณ 20 มล
2. เติมสารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก (ตารางภาคผนวกที่ 10 ) เขย่าขวดให้สารละลายเข้ากัน
3. เติมสารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารรอง MS (1962) วิตามิน เหล็ก สารช่วยการเจริญเติบโตและน้ำตาล ตามลำดับ แล้วเขย่าให้เข้ากัน
4. เติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มล
5. เทสารละลายลงในบีเกอร์ขนาด 250 มล แล้วปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 5.7 โดยใช้ 1N HCL และ 1N KOH
6. เติมวุ้นคนให้ละลายและนำไปต้มจนวุ้นละลาย
7. เตรียมใส่หลอดทดลองขนาด 25X150 มม ปริมาตร 10 มล/หลอด แล้วปิดปากหลอดด้วยแผ่นพลาสติก และกระดาษลอกกลายแล้วรัดด้วยยางรัดของ
8. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 15 ป (ปอนด์)/ น<sup>2</sup>(ตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

ตารางภาคผนวกที่ 10 ส่วนประกอบของสารละลายเข้มข้นแต่ละชนิด ในอาหารสูตร VW (1949)

ชนิดของสารละลาย	ปริมาณสารละลายเข้มข้นในอาหาร 1 ลิตร (มล)
สารละลายธาตุอาหารหลักความเข้มข้น 10X	100
สารละลายธาตุอาหารรองความเข้มข้น 10X	10
สารละลายสารอินทรีย์ความเข้มข้น 100X	10
สารละลายเหล็กความเข้มข้น 100X	10
น้ำมะพร้าว	100
เคซีนไฮโดรไลเสท	500 มล/ล
น้ำตาลซูโครส (น้ำหนัก/ปริมาตร)	20 ก/ล
ผงวุ้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	8 ก/ล



## ภาคผนวก ง

## การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา โดยวิธีการ paraffin embedding

สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมชิ้นส่วนพืชและสไลด์ถาวร

1. น้ำยาที่ใช้ในการฆ่าเซลล์และรักษาสภาพเซลล์ (killing and fixing solution) คือ FAA (formalin-acetic acid-alcohol) มีส่วนผสมของสารเคมี ดังนี้

ethyl alcohol (95%)	50	มล
glacial acetic acid	5	มล
formalin	10	มล
น้ำกลั่น	35	มล

2. น้ำยาที่ใช้ดึงน้ำออกจากเซลล์ (dehydrating solution) ประกอบด้วย ethyl alcohol (95%), absolute alcohol, tertiary butyl alcohol (TBA) และน้ำกลั่น โดยใช้ส่วนผสมในอัตราที่แตกต่างกัน 4 ระดับ ตามวิธีของ Sass (1966)

อัตราส่วนของสารเคมีในน้ำยาที่ใช้ดึงน้ำออกจากเซลล์

ชนิดและปริมาณ (มล.)	ระดับ (%)				
	50	70	85	95	100
ethyl alcohol (95%)	40	50	50	45	-
absolute alcohol	-	-	-	-	25
TBA	10	20	35	55	75
น้ำกลั่น	50	30	15	-	-

3. paraffin oil
4. สารตัวกลางที่ใช้ฝังเนื้อเยื่อ (embedding media) ได้แก่ Paraplast
5. น้ำยาคิดเนื้อเยื่อให้ติดแผ่นสไลด์ (adhesive) คือ albumin ซึ่ง stock solution ของน้ำยามีส่วนผสม ดังนี้

ไข่ขาว	1 มล
น้ำกลั่น	49 มล

นำ stock solution 1 มล เติมน้ำกลั่นให้ครบ 50 มล แล้วจึงนำไปใช้

6. น้ำยาทำให้เนื้อเยื่อใสสะอาด (clearing reagent) ได้แก่ xylol

## 7. สีย้อมเนื้อเยื่อ ได้แก่ Delafield's hematoxylin ที่มีส่วนผสม ดังนี้

ammonium aluminium sulphate	400	มล (อิ่มตัวในน้ำ)
hematoxylin	4	กรัม
95 % ethyl alcohol	25	มล
methyl alcohol	100	มล
glycerol	100	มล

## 8. สารตัวกลางสำหรับปิดแผ่นสไลด์ คือ Canada balsam

## การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

1. ตัดตัวอย่างเนื้อเยื่อบริเวณที่ต้องการศึกษา นำไปแช่ในน้ำยา FAA เพื่อหยุดการทำงานของเซลล์และรักษาสภาพเซลล์ ให้เนื้อเยื่อแช่อยู่ในน้ำยาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปผ่านขั้นตอนต่อไป
2. ค้างน้ำออกจากเซลล์ของเนื้อเยื่อ โดยผ่านเนื้อเยื่อจาก FAA ลงในน้ำยาระดับต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2 จากระดับ 50% ไปจนถึง 100% โดยให้เนื้อเยื่ออยู่ในน้ำยาแต่ละระดับเป็นเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเนื้อเยื่อไปผ่าน TBA 3 ครั้ง ครั้งละ 6-24 ชั่วโมงแล้วผ่านลงในน้ำยาที่มีส่วนผสมของ TBA และ paraffin oil อัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง
3. นำเนื้อเยื่อไปผ่านขั้นตอนของ infiltration โดยให้เนื้อเยื่อแช่ใน Paraplast ที่หลอมในขวดแก้ว นำขวดไปเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 56 °C เพื่อให้พาราฟินซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อ หลังจากนั้นจึงนำเนื้อเยื่อไปฝังในพาราฟินเพื่อการตัดเนื้อเยื่อต่อไป
4. นำชิ้นส่วนที่ฝังไว้ในพาราฟินมาติดเข้ากับแท่งไม้ แล้วนำไปตัดโดยใช้เครื่องตัดชิ้นส่วนพืชแบบล้อหมุน ตัดชิ้นส่วนตามยาวและตามขวางให้มีความหนา 13-15 ไมครอน
5. นำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่ตัดได้มาติดบนแผ่นสไลด์โดยใช้ adhesive เป็นตัวยึดให้ติดกับสไลด์
6. นำชิ้นส่วนไปผ่านขั้นตอนของการย้อมสี Delafield's hematoxylin แล้วทำความสะอาดเนื้อเยื่อโดยผ่านสไลด์ลงใน xylol ก่อนจะปิดด้วยกระจกปิดสไลด์โดยใช้ Canada balsam เป็นตัวยึด
7. นำเนื้อเยื่อไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และบันทึกภาพเนื้อเยื่อ

## ภาคผนวก จ

## การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาอิเล็กโทรโฟรีซิส

## 1. การเตรียม stock และสารละลาย

## 1.1 Electrode buffer

Solution A Tris buffer pH 8.3 (10X)

Tris	6.0	g
Glycine	28.8	g
H <sub>2</sub> O ปรับปริมาตร	1,000	ml

ปรับ pH เป็น 8.3 โดยใช้ NaOH หรือ HCL

หมายเหตุ : Trizma base หรือ Tris-(hydroxymethyl) aminomethane

## 1.1 Gel buffer

Solution B Tris-chloride buffer pH 8.9

HCl 1 N	48.00	ml
Tris	36.60	g
TEMED	0.23	ml
H <sub>2</sub> O ปรับปริมาตร	100	ml

กรองแล้วเก็บในที่มืด

Solution C Tris-chloride buffer pH 6.7

HCl 1 N	48.00	ml
Tris	5.98	g
TEMED	0.46	ml
H <sub>2</sub> O ปรับปริมาตร	100	ml

กรองแล้วเก็บในที่มืด

หมายเหตุ: TEMED คือ N,N,N,N,- tetemethyl ethylendiamine

Solution D Acrylamide stock

Acrylamide	28.00	g
N,N-methlyene bisacrylamine	0.74	g
H <sub>2</sub> O ปรับปริมาตร	100	ml

กรองแล้วเก็บในที่มืด

Solution (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)

## 1.2 Marker dye solution

Bromophenol blue	0.05	g
Solution C	10	ml
Glycerol	11.00	ml

หมายเหตุ: เวลาผสมใช้เพียง 10 %

## 2. วิธีเตรียมเจลเข้มข้น 8.5 %

## 2.1 Running gel

Solution B	1.87	ml
Solution D	4.55	ml
Solution $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$	80	$\mu\text{l}$
น้ำกลั่น	8.57	ml

ผสมให้เข้ากันเทใส่ลงในแผ่นแก้วที่ประกบรอไว้แล้วตามด้วยน้ำกลั่น รอให้ polymerize 60 นาที

## 2.2 Stracking gel

Solution C	0.42	ml
Solution D	1.35	ml
Solution $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$	18	$\mu\text{l}$
น้ำกลั่น	2.53	ml

ผสมให้เข้ากันแล้วเทลงด้านบนของ running gel แล้วเสียบหัวลงไป รอให้ polymerize 60 นาที

## 3. การเตรียมสารละลายเพื่อทำปฏิกิริยากับเอนไซม์

## 3.1 Esterase

Phosphate buffer (0.1 M pH 6.0)	100	ml
Fast blue B salt	0.15	g
กรองในที่มืด		

$\alpha$ -naphthyl acetate 3 ml (dilute 0.1 g ใน Absolute alcohol 10 ml ดึงออกมาใช้ 3 ml จาก 100 ml)

## 3.2 Peroxidase

Stock A : 3-amino-9-ethylcarbazole	0.42	g
$\beta$ -naphthol	0.29	G
Acetone	200	ml
กรองในที่มืดและเย็น		

Stock C : Hydrogenperoxide	3	%
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	10	ml
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> adjust	100	ml
เตรียมใหม่ทุกครั้ง		

หมายเหตุ : ใช้ในอัตราส่วนระหว่าง stock A: stock B: stock C = 20:80:1

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Chiang Mai University

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ - สกุล

นางสาวมนตร์ระวี พิราวัชร

ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้

46 / 5 - 6 ถนนบาลเมือง ตำบลธานี อำเภอเมือง จังหวัดสุโขทัย

64000 โทรศัพท์ 0-5561-1961

E-mail : perawat@hotmail.com

วัน เดือน ปีเกิด

13 ธันวาคม 2517

ประวัติการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่จบการศึกษา
มัธยมศึกษาตอนต้น	โรงเรียนอุดมครุณี	2533
มัธยมศึกษาตอนปลาย	โรงเรียนอุดมครุณี	2536
วทบ. (เกษตรศาสตร์)	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	2540