

เอกสารอ้างอิง

1. Robinson, J.W. and Food Technical Service Staff. "Will high Fructose Corn Syrup Sweeten Your Future ?" Food Eng. 47(5), (1975) : 57-61.
2. Speck, J.C., Jr. "The Lobry De Bruyn-Alberda Van Ekenstein Transformation. Adv. Carbohyd. Chem. 13(1958) : 63-103.
3. Scallet, B.L and Ehrenthal, I. "High D.E. Corn Type Starch Conversion Syrup and Methods of Making Same". U.S. patent 3,305,395. Feb 21, 1967.
4. Scallet, B.L. and Ehrenthal, I. "Process of Purifying High D.E. Very Sweet Syrups". U.S. patent 3,383,245 May 14, 1968.
5. Scallet, B.L. Katz., E. and Ehrenthal, I. "Process of Making High D.E. Fructose Containing Syrups". U.S. Patent 3,690,948. Sept. 12, 1972.
6. Baker, S.A., Somers, P.J. and Hatt, B.W. "Process for the Preparation of Fructose". U.S. Patent. 3,875,140. April. 1, 1975.
7. Mac. Allister, R.V., Lloyd, N.E., Dworschack, R.G. and Nelson, W.J. "Improvements in or Relating to Fructose-Containing Syrups". Brit. Pat. 1,267,119. March. 15, 1972.
8. Marshall, R.O. and Kooi, E.R. "Enzymatic Conversion of D-Glucose to D-Fructose. Science. 125 (1957) : 648-649.
9. Marshall, R.O. "Enzymatic Conversion of D-Glucose to D-Fructose". U.S. Patent. 2,950,228. May 17, 1960.

10. Yoshimura, S., Danno, G. and Natake, M. "Studies on D-Glucose Isomerizing Activity of D-xylose Grown Cells from Bacillus coagulans strain HN-68". Agric. Biol. Chem. 30 (1961) : 1015-1023.
11. Rose, A.H. (ed.). Glucose Isomerase in Microbial enzyme and Biotechnodgy Economic Microbiology vol. 5. pp. 57-60. Academic Press Inc., New York, 1980.
12. Natake, M. and Yoshimura, S. "Studies on Glucose Isomerase of Bacteria Part II. The Glucose Isomerizing Activity of E. intermedia, strain HN-500". Agric. Biol. Chem. 28 (1964) : 505-509.
13. Yamanaka, K. "Sugar Isomerase". I. Production of D-Glucose Isomerase from Heterolactic Acid Bacteria". Agric. Biol. Chem. 27 (1963) : 265-270.
14. Coker, L.E. and Gardner, D.E. "Glucose Isomerizing Enzyme". U.S. Patent 3,956,006. May. 11, 1976.
15. Parry, L. "Process of Enzymatically Isomerizing Glucose to Fructose". Brit. Pat. 1,400,829. July. 23, 1975.
16. Suekane, M. Tamura, M. and Tomimura, C. "Physicochemical and Enzymatic Properties of Purified Glucose Isomerase from S. olivochromogenes and B. stearothermophilus". Agric. Biol. Chem. 42 (1978) : 907-917.
17. Tsumura, N. and Sato, T. "Enzymatic Conversion of D-Glucose to D. Fructose. Part VI. Properties of the Enzyme from Streptomyces phaeochromogenes". Agric. Biol. Chem. 29 (1965) : 1129-1134.

18. Takasaki, Y. "Studies on Sugar-isomerizing Enzyme. Production and Utilization of Glucose Isomerase from Streptomyces sp." Agric. Biol. Chem. 30 (1966) : 1247-1253.
19. Takasaki, Y. "Formation of Glucose Isomerase by Streptomyces sp." Agric. Biol. Chem. 38 (1974) : 667-668.
20. Chen, W.P., Anderson, A.W. and Han, Y.W. "Production of Glucose Isomerase by Streptomyces flavogriseus". Appl. Environ. Microbiol. 37 (1979) : 324-331.
21. Joseph, R., Shanthamma, M.S. and Murthy, V.S. "Isolation of Streptomyces Having Glucose Isomerase Activity and Assessment of their Efficiency in the production of Fructose Syrup". J. Food. Sci. Technol. 14 (1977) : 73-77.
22. Nand, K., Srikanta, S., Joseph, R., Shanthamma, M.S. and Murthy, V.S. "Production of Glucose Isomerase by S. fradiae". Indian. J. Exp. Biol. 15 (1977) : 668-669.
23. Vaheri, M. and Kanppinen, V. "Improved Microbial Glucose Isomerase Production". Process Biochem. 12 (1977) : 5-8.
24. Takasaki, Y. "Kinetic and Equilibrium Studies on D-Glucose D-Fructose Isomerization Catalyzed by Glucose Isomerase from Streptomyces sp." Agric. Biol. Chem. 31(3), (1967) : 309-313.
25. Arinbruster, F.C., Heady, R.E., Forest, P. and Cory, R.P. "Production of Xylose (Dextrose) Isomerase Enzyme Preparations". U.S. Patent. 3,813,318 May. 28, 1974.
26. Weber, P. "Glucose Isomerase from Streptomyces glaucescens". Ger. Patent. 2,408,708. Sep. 5, 1974.

27. Chen, W.P., Anderson, A.W. and Han, Y.W. "Production of Glucose Isomerase by Streptomyces flavogriseus". Appl. Environ. Microbiol. 37 (1979) : 324-311.
28. Chou, C.C., Ladisch, M.R. and Tsav, G.T. "Studies on Glucose Isomerase from a Streptomyces species". Appl. Environ. Microbiol. 32 (1976) : 489-493.
29. Strandberg, G.W. and Smiley, K.L. "Free and Immobilized Glucose Isomerase from Streptomyces phaeochromogenes". Appl. Environ. Microbiol. 21 (1969) : 23-30.
30. Isumura, N., and Sato, T. "Enzymatic Conversion of D-Glucose to D-Fructose V. Partial purification and properties of the enzyme from Acrobacter cloacae". Agric. Biol. Chem. 29 (1965) : 1123-1128.
31. Takasaki, Y. and Tanabe, O. "Studies on isomerization of sugars by bacteria. IX. NAD-linked D-Glucose-Isomerizing. Enzyme from Paracolobacterium aerogenoides". Agric. Biol. Chem. 30 (1966) : 220-225.
32. Takasaki, Y., Kosugi, S. and Kanbayashi, A. "Streptomyces glucose isomerase". Third Intern. Ferment. Synp. Inst. Microbiol. Rutgers, Newbrunswick, N.J., 1968.
33. Takasaki, Y. and Kanbayashi, A. "Studies on sugar isomerizing Enzyme IV. Extraction of Glucose Isomerase of Streptomyces sp." Rep. Ferment. Res. Inst. 37 (1969) : 23-30.
34. Takasaki, Y., Kosugi, Y. and Kanbayashi, A. "Studies on sugar-isomerizing Enzyme Purification, Crystallization and Some Properties of Glucose Isomerase from Streptomyces sp. Agric. Biol. Chem. 33 (1969) : 1527-1534.

35. Chen, W.P., Anderson, A.W. and Han, Y.W. "Extraction of Glucose Isomerase from Streptomyces flavogriseus". Appl. Environ. Microbiol. 37 (1979) : 785-787.
36. Takasaki, Y., Kanbayashi, A. and Kosugi, Y. "Streptomyces Glucose Isomerase". in Fermentation Advances (Perlman D. ed.) pp. : 561-570. Academic Press Inc; New York, 1969.
37. Natake, M. "Studies on Glucose Isomerizing Enzyme of Bacteria. Part IV. Purification and Properties of the Enzyme from Escherichia intermedia, strain HN-500. Agric. Biol. Chem. 30 (1966) : 887-895.
38. Yamanaka, K. "Purification, Crystallization and Properties fo the D-Xylose Isomerase from Lactobacillus brevis". Biochem. Biophys. Acta. 151 (1968) : 670-688.
39. Danno, G. "Studies on D-Glucose Isomerizing Enzyme from Bacillus coagulans, strain HN-68. Part V Purification, Crystallization and Some Physicochemical Properties". Agric. Biol. Chem. 34 (1970) : 1795-1804.
40. Chen, W.P. and Anderson, A.W. "Purification, Immobilization and some propertic of Glucose Isomerase from Streptomyces flavogriseus". Appl. Environ. Microbiol. 38 (1979) : 1111-1119.
41. Attia, R.M., Chali, Y., Roushol, M. and Eldin, A. "Studies on the combined action of Amylases and glucose isomerases on starch and its hydrolysate". I Production, Extraction, Purification and Kinetic behavior of glucose isomerase". Z. Ernaehrungswiss. 19 (1980) : 71-87.

42. Gong, cheng-shung, Chen, Lifu and George, T., Tsag. "Purification and Properties of Glucose Isomerase of Actinoplanes missouriensis". Biotech. Bioeng. 22 (1980) : 833-845.
43. Kasumi, T., Hayashi, K. and Tsumura, N. "Purification and Enzymatic properties of Glucose Isomerase from Streptomyces griseofuscus, S-41". Agric. Biol. Chem. 45 (1981) : 619-627.
44. Lee, Y.H., Wankat, P.C., Emery, A.H. "Purification of Glucose Isomerase by Affinity chromatography. Biotech. Bioeng. 18 (1976) : 1639-1642.
45. Fujita, Y. et al. "Isomerization of Glucose of Fructose". Japanese Patont 76, 118, 886. March, 10, 1976.
46. Giovenco, S., Morisi, F. and Pansolli, P. "Properties of free and immobilized Glucose Isomerase". FEBS-letters. 36 (1973 ) : 57-60.
47. Danno, G. "Studies on D-Glucose-isomerizing Enzyme from Bacillus coagulans, Strain, HN-68. Part V Comparative Study on the three Activities of D-Glucose, D-Xylose and D-Ribose Isomerization of the Crystalline Enzyme". Agric. Biol. Chem. 34 (1970) : 1805-1814.
48. Park, Y.K. and Toma, M. "Some Interrelation Between Microbial Xylanase and Glucose Isomerase Production". J. Gen. Appl. Microbiol. 20 (1974) : 67-69.
49. Sanchez. S, and Smiley, K.L. "Properties of D-Xylose Isomerase from Streptomyces albus". Appl. Microbiol. 29 (1975) : 745-750.
50. Chen, W.P. "Glucose Isomerase (A review)". Process. Biochem. 15 (1980) : 36-41.

51. Yamanaka, K. "D-Xylose isomerase from Lactobacillus brevis".  
Methods of Enzymol. 51 (1975) : 466-471.
52. Takasaki, Y. "Fructose From Glucose by thermophillic Streptomyces".  
Japanese Patent. 74,142,555. Nov. 15, 1974.
53. Antrim, M.R., Co., W. and Schnyder, B. "Glucose Isomerase  
Production of High-Fructose Syrups in Appl. Biochem. Bioeng.  
(Lemuel, B.W., Ephraim, K. and Goldstein, L. eds.) pp : 97-  
153. Academic Press Inc., New York, 1979.
54. Takasaki, Y. and Tanabe, D. "Studies on the isomerization of  
sugar by bacteria". J. Agric. Chem. Soc. Jpn. 36 (1962) :  
1010-1014.
55. Bucke, C.T. "Industrial Glucose Isomerase". in Topics in Enzyme  
and Fermentation Biotecnology (Wiseman, A. ed.) pp. : 148-  
171. Ellis Horwood United Publisher, England 1977.
56. Danno, G. "Studies on D-Glucose-isomerizing Enzyme from Bacillus  
coagulans, Strain HN-68. Part VI. The Role of Metal Ions on  
the Isomerization of D-Glucose and D-Xylose by the Enzyme".  
Agric. Biol. Chem. 35 (1971) : 997-1006.
57. Tsumura, N., Hagi, M., and Sato, T. "Enzymatic Conversion of  
D-Glucose to D-Fructose. Part VIII. Propagation of Streptomyces  
phaeochromogenes in the presence of Cobaltous ion". Agric.  
Biol. Chem. 31 (1967) : 902-907.
58. Natake, M. and Yoshimura, S. "Studies on Glucose Isomerase of  
Bacteria I Formation of Glucose Isomerase by Aerobacter  
aerogenes, Strain NH-56 and Its Relationship to Xylose  
Isomerase". Agric. Biol. Chem. 27 (1963) : 342-348.

59. Lee, C.K., Hayes, L.C. and Long, M.E. "Process of Preparing Glucose Isomerase U.S. Patent 3,545,848. Feb., 29, 1972.
60. Lee, C.K., and Long, M.E. "Enzyme-Catalyzed Conversion of Substrate". U.S. Patent 3,821,086. Jan., 12, 1974.
61. Aschengreen, N.H. "Production of Glucose/Fructose Syrup". Process. Biochem. 10 (1975) : 17-19.
62. Slein, M.W. "Xylose Isomerase from Pasteurella pestis". J. Amer. Chem. Soc. 77 (1955) : 1663-1665.
63. Kasumi, T., Hayashi, K., and Tsumura, N. "Physicochemical Characterization of Glucose Isomerase from Streptomyces griseofuscus, S-41". Agric. Biol. Chem. 45 (1981) : 1087-1095.
64. Kasumi, T., Hayashi, K., and Tsumura, N. "Subunit Structure of Glucose Isomerase from Streptomyces griseofuscus, 8-41". Agric. Biol. Chem. 45 (1981) : 1097-1103.
65. Kasumi, T., Hayashi, K. and Tsumura, N. "Roles of Magnesium and Cobalt in the Reaction of Glucose Isomerase from Streptomyces griseofuscus, S-41". Agric. Biol. Chem. 46 (1982) : 21-30.
66. Lewis, V.B., Dennis, M., Chen, E.Y., Smith, D. and Dennis, J. "Cloning and Sequencing of the Xylose Isomerase and Xylose Kinase Gene of Escherichia coli". Appl. Environ. Microbiol. 47 (1984) : 15-21.
67. Yamanaka, K. and Takahara, N. (1977). "Purification and Properties of D-Xylose isomerase from Lactobacillus xylosus". Agric. Biol. Chem. 4 (1977) : 1909-1912.



68. Hogue-Angeletti, R. "Subunit Structure and Amino acid Composition of Xylose Isomerase from Streptomyces albus". J. Biol. Chem. 250 (1975) : 7814-7818.
69. นฤมล คู่ภรรยา. "การศึกษากลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดย Streptomyces sp. สายพันธุ์ 190-1". วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2526.
70. Dische, Z. and Borenfreund, E. "A New Spectrophotometric Method for the Detection and Determination of Keto Sugars and Trioses". J. Biol. Chem. 192 (1951) : 583-587.
71. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr., A.L. and Randall, R.J. "Protein Measurement with Folin Phenol Reagent". J. Biol. Chem. 193 (1951) : 265-275.
72. Bradford, M.M. "A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding". Anal. Biochem. 72 (1976) : 248-254.
73. Williams, and Reisfeld. "Disc Electrophoresis in Polyacrylamide Gels : Extension to New Conditions of pH and Buffer". N.Y. Acad. Annals., 121(2), (1964) : 373-375.
74. Laemmli, U.K. "Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T-4". Nature; 227 (1970) : 680-685.
75. Kasumi, T., Hayashi, K. and Tsumura, N. " Role of Cobalt in Stabilizing the Molecular Structure of Glucose Isomerase from Streptomyces griseofuscus, S-41". Agric. Biol. Chem. 46(1), (1982) : 31-39.

## ภาคผนวก

### 1. สารละลายย่อยสลายด้วยกรดกำมะถันของเปลือกข้าวโพด ( $H_2SO_4$ hydrolysate of corn hulls)

วิธีเตรียมนี้ดัดแปลงมาจากวิธีของ Chen และ Anderson(35) โดยนำเปลือกข้าวโพดแห้งที่หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ มา 3 กรัม แช่ใน 100 มล. ของ 0.1 นอร์มอล กรดกำมะถัน และนึ่งที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 30 นาที หลังจากนั้นนำมากรองและเก็บส่วนของสารละลาย (filtrate) มาปรับ pH ให้เป็น 7.0 ด้วย 1 และ 10 นอร์มอล โซเดียมไฮดรอกไซด์ กรองตะกอนที่เกิดขึ้นทิ้งไป เก็บส่วนสารละลายไว้ใช้ต่อไป

### 2. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเก็บเชื้อ (Stock culture medium)

|   |     |             |
|---|-----|-------------|
| ไซโลส (xylose)                            | 1.0 | เปอร์เซ็นต์ |
| กลูโคส (glucose)                          | 0.1 | "           |
| เปปโตน (peptone)                          | 1.0 | "           |
| ยีสต์เอกซแทรก (yeast extract)             | 0.4 | "           |
| แมกนีเซียมซัลเฟต ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) | 0.5 | "           |
| วุ้นผง                                    | 2.0 | "           |
| ปรับระดับความเป็นกรดต่างๆ                 | 7.0 | "           |

อบฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

### 3. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับทำหัวเชื้อ (Starter of Inoculum medium)

|  |     |             |
|--|-----|-------------|
| สารละลายย่อยสลายด้วยกรดกำมะถันของเปลือกข้าวโพด | 3.0 | เปอร์เซ็นต์ |
| ไซโลส  | 0.5 | "           |
| เปปโตน   | 1.0 | "           |
| ยีสต์ เอกซแทรก                                 | 0.5 | "           |
| แมกนีเซียมซัลเฟต ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )      | 0.1 | "           |
| ปรับระดับความเป็นกรดต่างๆ                      | 7.0 |             |

อบฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที



#### 4. อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเอนไซม์ (Production medium)

อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเอนไซม์นี้ใช้ทั้งในการเลี้ยงเชื้อในขวดแก้วทรงกรวย (Erlenmayer flask) และในถังหมัก (Fermentor)

|   |      |                               |
|---|------|-------------------------------|
| ไซโลล์                                    | 0.50 | เปอร์เซ็นต์ (แยกอบฆ่าเชื้อ)   |
| * ล้ำละลายย่อยสลายด้วยกรดกำมะถัน          |      |                               |
| ของกากถั่วเหลือง                          | 0.5  | เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) |
| * ล้ำละลายย่อยสลายด้วยกรดกำมะถันของ       |      |                               |
| รำข้าวที่กำจัดไขมันแล้ว                   | 1.5  | เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) |
| (Defatted rice bran hydrolysate)          |      |                               |
| โคบอลต์คลอไรด์                            | 0.01 | เปอร์เซ็นต์                   |
| ยีสต์ เอกซ์แทรก                           | 0.30 | "                             |
| ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ ) | 0.94 | "                             |
| โพแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $KH_2PO_4$ ) | 0.06 | "                             |
| ปรับระดับความเป็นกรดต่างๆ                 | 8.0  |                               |

อบฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที สำหรับการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในถังหมัก และ 15 นาทีสำหรับการเลี้ยงเชื้อในขวดรูปกรวย

\* การเตรียมล้ำละลายที่ย่อยสลายด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวที่กำจัดไขมันแล้ว (Defatted rice bran) และกากถั่วเหลือง (Soy Bean Meal)

แช่ 12 กรัม ของกากถั่วเหลืองที่ร่อนด้วยตะแกรงขนาด 20 Mesh (0.84 มม.) หรือรำข้าวสาคูที่ร่อนด้วยตะแกรงขนาด 40 Mesh (0.42 มม.) ใน 40 มล. ของ 1 นอร์มอล กรดกำมะถัน และนำไปนึ่งที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 40 นาที ต่อจากนั้น ล้างแยก 2 ครั้ง ด้วยน้ำ 50 และ 30 มิลลิลิตร กรอง และปรับ pH ให้เป็นกลางด้วย 1 และ 10 นอร์มอลโซเดียมไฮดรอกไซด์ กรองตะกอนทิ้ง เก็บส่วนน้ำไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อต่อไป

## 6. สารละลายสำหรับการหาปริมาณโปรตีน

### 6.1 สารละลายสำหรับการหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีลอร์รี่ (Lowry) (71)

#### 6.1.1 ลอร์รี่ เอ (Lowry A)

|   |                 |
|---|-----------------|
| โซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) | 60 กรัม         |
| โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)                      | 12 "            |
| โซเดียมโปแตสเซียมทาร์เทรต                     | 0.6 "           |
| ละลายในน้ำกลั่น                               | 3,000 มิลลิลิตร |

#### 6.1.2 ลอร์รี่ บี (Lowry B.)

|  |                 |
|--|-----------------|
| คอปเปอร์ซัลเฟต ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) | 50 กรัม         |
| ละลายในน้ำกลั่น  | 1,000 มิลลิลิตร |

#### 6.1.3 ลอร์รี่ ซี (Lowry C)

|                |         |
|----------------|---------|
| ผสม ลอร์รี่ เอ | 50 ส่วน |
| ผสม ลอร์รี่ บี | 1 ส่วน  |

#### 6.1.4 สารละลายฟีนอลรีเอเจนต์ (Phenol reagent)

นำสารละลายฟอลินฟีนอลรีเอเจนต์ (Folin phenol reagent) 1 ส่วน  
มาเติมน้ำกลั่น 1 ส่วน

### 6.2 สารละลายสำหรับการหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีของแบรดฟอร์ด (Bradford, M.) (72)

#### 6.2.1 สารละลายโปรตีนรีเอเจนต์ (Protein Reagent)

นำ 100 มิลลิกรัมของสีโคแมสซี บลู (Coomassie Brilliant Blue G-250) มาละลายใน 50 มิลลิลิตร ของ 95 เปอร์เซ็นต์ เอทิลแอลกอฮอล์ และผสมกับ 100 มิลลิลิตร ของ 85 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ของกรดฟอสฟอริกแล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร จากส่วนผสมทั้งหมดนี้สารต่าง ๆ จะมีความเข้มข้นสุดท้ายดังนี้ โคแมสซี บลู 0.01 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) เอทิลแอลกอฮอล์ 4.7 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) และกรดฟอสฟอริก 8.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)

7. สารละลายที่ใช้ในการนำโพลีอะโครลาไมด์เจลอีเลคโตรโฟรีซิส (Williams and Reisfeld) (73)

7.1 สารละลาย, เอ (Solution A)

|  |      |           |
|--|------|-----------|
| กรดเกลือเข้มข้น 1 นอร์มอล                | 48   | มิลลิลิตร |
| ทริส (Tris (hydroxymethyl) aminomethane) | 36.3 | กรัม      |
| TEMED (N,N,N',N'-Tetramethylenediamine)  | 0.23 | มิลลิลิตร |
| เติมน้ำให้ครบ                            | 100  | มิลลิลิตร |
| ระดับความเป็นกรดต่าง ประมาณ 8-9          |      |           |

7.2 สารละลายบี (Solution B)

|                           |      |           |
|---------------------------|------|-----------|
| กรดเกลือเข้มข้น 1 นอร์มอล | 48   | มิลลิลิตร |
| ทริส                      | 5.98 | กรัม      |
| TEMED                     | 0.46 | มิลลิลิตร |
| เติมน้ำให้ครบ             | 100  | มิลลิลิตร |

7.3 สารละลาย ซี (Solution C)

|                                   |       |           |
|-----------------------------------|-------|-----------|
| อะโครลาไมด์                       | 28    | กรัม      |
| BIS (N,N-methylenebis acrylamide) | 0.735 | กรัม      |
| ละลายในน้ำกลั่น                   | 100   | มิลลิลิตร |

7.4 สารละลาย ดี (Solution D)

|                 |     |           |
|-----------------|-----|-----------|
| อะโครลาไมด์     | 10  | กรัม      |
| BIS             | 2.5 | "         |
| ละลายในน้ำกลั่น | 100 | มิลลิลิตร |

7.5 สารละลาย อี (Solution E)

|                         |     |           |
|-------------------------|-----|-----------|
| ไรโบเฟลวิน (Riboflavin) | 4   | มิลลิกรัม |
| ละลาย ในน้ำกลั่น        | 100 | มิลลิลิตร |

7.6 สารละลาย จี (Solution G)

|   |      |           |
|---|------|-----------|
| แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต (Ammonium persulfate) | 0.14 | กรัม      |
| ละลายในน้ำกลั่น                             | 100  | มิลลิลิตร |

## 7.7 สารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ (Running buffer) (เข้มข้น 10 เท่า)

|                  |      |      |
|------------------|------|------|
| ทริส             | 3.0  | กรัม |
| ไกลซีน (glycine) | 14.4 | "    |
| ละลายในน้ำกลั่น  | 1    | ลิตร |

## 7.8 สารละลายผลัมของเซพาเรตติ้ง เจล (Separating gel)

|             |   |      |
|-------------|---|------|
| สารละลาย เอ | 1 | ส่วน |
| สารละลาย ซี | 2 | ส่วน |
| น้ำกลั่น    | 1 | ส่วน |
| สารละลาย ซี | 4 | ส่วน |

## 7.9 สารละลายผลัมของสแตกกิง เจล (Stacking gel)

|             |   |      |
|-------------|---|------|
| สารละลาย บี | 1 | ส่วน |
| สารละลาย ดี | 2 | ส่วน |
| น้ำกลั่น    | 4 | ส่วน |
| สารละลาย บี | 2 | ส่วน |

8. สารละลายที่ใช้ในการทำโพลีอะโครลาไมด์ เจลชนิดแผ่น (Slab gel electrophoresis) (74)

## 8.1 สารละลายทริส-ไกลซีนอีเลคโตรดบัฟเฟอร์

(0.025 โมลาร์ ทริส, 0.192 โมลาร์ ไกลซีน)

|                                  |       |           |
|----------------------------------|-------|-----------|
| ทริส (ไฮดรอกซีเมทิล) อะมิโนมีเทน | 15.15 | กรัม      |
| ไกลซีน                           | 72    | กรัม      |
| โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต             | 5     | กรัม      |
| ปรับ pH เป็น                     | 8.3   |           |
| และเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร      | 5,000 | มิลลิลิตร |

## 8.2 สารละลายทริส-โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต pH 6.8

(0.25 โมลาร์ทริส)

|                      |      |      |
|----------------------|------|------|
| ทริส                 | 39.4 | กรัม |
| โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต | 2    | "    |
| ปรับ pH เป็น         | 6.8  |      |

- และเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร
- 8.3 สารละลายทริส-โซเดียมโอดีเตซิลซัลเฟต, pH 3.8  
(0.76 โมลาร์ ทริส)
- |                              |       |           |
|------------------------------|-------|-----------|
| ทริส                         | 118.2 | กรัม      |
| โซเดียมโอดีเตซิลซัลเฟต       | 2     | "         |
| ปรับ pH เป็น                 | 8.8   | "         |
| และเติมน้ำกลั่นจนปริมาตรเป็น | 1,000 | มิลลิลิตร |
- 8.4 บัฟเฟอร์ที่ใช้กับโปรตีนที่จะวิเคราะห์  
(Sample Buffer) 0.0625 ทริส
- |  |     |           |
|--|-----|-----------|
| สารละลายทริส-โซเดียมโอดีเตซิลซัลเฟต , pH 6.8 | 25  | มิลลิลิตร |
| โซเดียมโอดีเตซิลซัลเฟต                       | 2   | กรัม      |
| กลีเซอรอล                                    | 10  | มิลลิลิตร |
| 2- เมอแคปโตเอทานอล (2-Mercapto ethanol)      | 5   | "         |
| สารละลาย 1 เปอร์เซ็นต์บรอมฟินอลบลู           | 0.1 | "         |
| และเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร                  | 100 | "         |
| เก็บไว้ในขวดสีชาที่ปิดฝาสนิท                 |     |           |
- 8.5 สารละลายอะคริลาไมด์ (Acrylamide stock)
- |  |     |           |
|--|-----|-----------|
| อะคริลาไมด์  | 30  | กรัม      |
| BIS  | 0.8 | "         |
| เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร                                   | 100 | มิลลิลิตร |
| เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสไว้ได้นาน 2 สัปดาห์ |     |           |
- 8.6 สารละลายแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต
- |                                     |     |           |
|-------------------------------------|-----|-----------|
| แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต               | 0.1 | กรัม      |
| เติมน้ำกลั่นให้เป็น                 | 10  | มิลลิลิตร |
| สารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ ๆ ก่อนใช้ |     |           |

## 8.7 สารละลายผสมของรีโซลวิงเจล (Resolving gel solution)

|  |      |           |
|--|------|-----------|
| สารละลายอะไครลาไมด์                          | 19.8 | มิลลิลิตร |
| สารละลายทริส-โซเดียมโตเดซิลซัลเฟต พีเอช 8.8  | 30   | "         |
| เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร                     | 60   | "         |
| TEMED  | 15   | ไมโครลิตร |
| สารละลาย 1 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต | 1.5  | มิลลิลิตร |

## 8.8 สารละลายผสมของสแตกกิงเจล (Stacking gel Solution)

|  |    |           |
|--|----|-----------|
| สารละลายอะไครลาไมด์                          | 2  | มิลลิลิตร |
| สารละลายทริส-โซเดียมโตเดซิลซัลเฟต            | 10 | "         |
| เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร                     | 20 | "         |
| TEMED  | 10 | ไมโครลิตร |
| สารละลาย 1 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต | 1  | มิลลิลิตร |



ประวัติผู้เขียน

นางสาวขนิษฐา จรรยาอุตม เกิดเมื่อวันที่ 21 พฤศจิกายน 2502 ที่กรุงเทพมหานคร ได้รับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา จากคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2523.

