รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กัญจนา บุณยเกียรติ, แม้น อมรสิทธิ์, ชูชาติ บารมี, นิวัฒน์ เกรียวสกุล และอรวรรณ ชัยลภากุล. 2527. การวิเคราะห์ถ่านหินจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย. คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร, 149 หน้า.

การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย. 2538. เครื่องกำจัดแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์. งานแสดงเกษตรและอุตสาหกรรมโลก ฝ่ายก่อสร้างพลังความร้อน การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย.

ภาษาอังกฤษ

American Society of Testing Materials. 1990. Annual book of ASTM standards, part 26, method D2492 and D3177. American Society of Testing Materials, Philadelphia.

Atlas, R.M., Brown, A.E., Dobra, K.W., and Miller, L. 1984. Experimental Microbiology (Fundamental and Applications) Macmillan Publishing Company, New York.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing : the principle of protein dry binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.

Chandra, D., Roy, P., Mishra, A.K., Chakrabarti, J.N., and Sengupta, B. 1979. Microbial removal of organic sulphur from coal. Fuel. 58: 549-550.

Charanjit, R., and Reyniers, J.P. 1988. Microbial desulfurization of coals by organisms of the genus *Pseudomonas*. Biotechnol. Progress. 4: 225-230.

Clarke, P.J., and Ornston, L.N. 1975. Metabolic pathways and regulation. I. In Clarke, P.H., and Richmond, M.H. (ed.),Genetics and biochemistry of *Pseudomonas*. John Wiley & Sons. Inc., New York..

Cowan, S.T. 1974. Manual for the identification of medical bacteria. second edition. Cambridge University Press.

Denome, S.A., Olson, E.S., and Young, K.D. 1993. Identification and cloning of genus involved in specific desulfurization of dibenzothiophene by *Rhodococcus* sp. strain

IGTS8. Appl. Environ. Microbiol. 59(9): 2837-2843.

____. Oldfield, C., Nash, L.J., and Young, K.D. 1994.Characterization of the desulfurization gene from *Rhodococcus* sp. strain IGTS8. J. Bacteriol. 176(21): 6707-6716.

Dugan, P.R., and Apel, W.A. 1978. Microbiological desulfurization of coal. In Murr, L.E., and Brierley, J.A. (ed.), Metallurgical application of bacterial leaching and related microbiological phenomena, Academic Press, Inc., New York.

Elsawy, A, and Gray, D. 1991. A critical review of biodesulfurization systems for removal of organic sulphur from coal. Fuel. 70: 591-594.

Finnerty, W.R., and Robinson, M. 1986. Microbial desulfurization of fossil fuels: A review. Biotech. Bioeng. Symp. 16: 205-221.

Foght, J.M., and Westlake, D. W.S. 1988. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and aromatic heterocycles by a *Pseudomonas* species. Can. J. Microbiol. 34: 1135-1141.

Gokcay, C.F., and Yerteri, R.N. 1983.Microbial desulphurization of lignites by a thermophilic bacterium. Fuel. 62: 1223-1224.

Hoffmann, M.R., Fausy, B.C., Panda, K.D., Koo, H.H., and Tsuchiya, H.M. 1981. Kinetics of the removal of iron pyrite from the microbial catalysis. Appl. Environ. Microbiol. 42: 259-271.

Hou, C.T., and Laskin, A.I. 1976. Microbial conversion of dibenzothiophene. Dev. Ind. Microbiol. 17: 351-362.

Howells, G. 1995. Acid rain and acid waters. second edition. Ellis Horwood series in Environmental Management, science and technology. John Wiley & Sons.

Izumi, Y., Ohshiro, T., Ogino, H., Hine, Y., and Shimao, M. 1994. Selective desulfurization of dibenzothiophene by *Rhodococcus erythropolis* D-1. Appl. Environ. Microbiol. 60: 223-226.

Kado, C.I., and Liu, S.T. 1981. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmid. J. Bacteriol. 145(3): 1365-1373.

Kargi, F. 1982. Enhancement of microbial removal of pyrite sulfur from coal using concentrated cell suspension of *Thiobacillus ferrooxidans* and an external carbon dioxide supply. Biotech. Bioeng. 24: 742-752.

_____. 1986. Microbial methods for desulfurization of coal. Tibtech : 293-297.

Kargi, F., and Robinson, J.M. 1982. Removal of sulfur compounds from coal by the thermophilic organisms *Sulfolobus acidocaldarius*. Appl. Environ. Microbiol. 44: 878-883.

_____. 1984. Microbial oxidation of dibenzothiophene by the thermophilic organism *Sulfolobus acidocaldarius*. Biotech. Bioeng. 26: 687-690.

_____. 1986. Removal of organic sulphur from bituminus coal : Use of the thermophilic organism *Sulfolobus acidocaldarius*. Fuel. 65: 397-399.

Kilbane, J.J.II. 1989. Desulfurization of coal : the microbial solution. Tibtech. 7:97-101.

_____. 1990. Sulfur-specific microbial metabolism of organic compounds. Res. Conserv. Recycl. 3: 69-79.

_____. Jackowski, K. 1992. Biodesulfurization of water soluble coal derived material by *Rhodococcus rhodochrous* IGTS8. Biotech. Bioeng. 40: 1107-1114.

Kodama, K., Nakatani, S., Umehara, K., Shimizu, K., Minoda, Y., and Yamada, K. 1970. Microbial conversion of petro-sulfur compound. III. Isolation and identification of products from dibenzothiophene. Agri. Biol. Chem. 34: 1320-1324.

_____. 1973. Identification of microbial products from dibenzothiophene and its proposed oxidation pathway. Agri. Biol. Chem. 37: 45-50.

Larborde, A.L., and Gibson, D.T. 1977. Metabolism of dibenzothiophene by a *Beijerinckia* species. Appl. Environ. Microbiol. 34: 783-790.

MadgavKar, A. M. 1989. Microbiological desulfurization of coal and coal water admixture to provide a desulfurized fuel. Patent. 4,861,723, USA.

Mocrina, F.L., Kopeck, D.J., Jones, K.R., Ayers, D.J. and Mc Cowen, S.M. 1978. A multiple plasmid-containing *Escherichia coli* strain : Convenient source of size reference plasmid molecules. Plasmid 1: 417-420.

Monticello, D.J., Bakker, D., and Finnerty, W.R. 1985. Plasmid-mediated degradation of dibenzothiophene by *Pseudomonas* species. Appl. Environ. Microbiol. 49: 756-760.

Mormile, M.R., and Atlas, R.M. 1988. Mineralization of the dibenzothiophene biodegradation products 3-hydroxy-2-formyl benzothiophene and dibenzothiophene sulfone. Appl. Environ. Microbiol. 54: 3183-3184.

Oshiro, T., Hine, Y., and Izumi, Y. 1994.Enzymatic desulfurization of dibenzothiophene by a cell-free system of *Rhodococcus erythropolis* D-1. FEMS Microbiol.Lett. 118: 341-344.

_____. Kanbayashi, Y., Hine, Y., and Izumi, Y. 1995. Involvement of flavin coenzyme in dibenzothiophene degrading enzyme system from *Rhodococcus erythropolis* D-1. Biosci. Biotech. Biochem. 59(7): 1349-1351.

_____. Suzuki, K., and Izumi, Y. 1996. Regulation of dibenzothiophene degrading enzyme activity of *Rhodococcus erythropolis* D-1. J. Ferment. Bioeng. 81(2): 121-124.

Omori, T., Monna, L., Saiki, Y., and Kodama, T. 1992. Desulfurization of dibenzothiophene by *Corynebacterium* sp. strain SY1. Appl. Environ. Microbiol. 58: 911-915.

Peddington, C.S., Kovacevich, B.R., and Rambosek, J. 1995. Sequence and molecular characterization of a DNA region encoding the dibenzothiophene desulfurization operon of *Rhodococcus* sp. strain IGTS8. Appl. Environ. Microbiol. 61(2): 468-475.

Rawings, D.E., and Kusano, T. 1994. Molecular genetics of *Thiobacillus ferrooxidans*. Microbiol. Rev. 58(1): 39-55.

Roberto, F.F., Glenn, A.W., Bulmer, D., Ward, T.E. 1991. Genetic transfer in acidophilic bateria which are potentially applicable in coal beneficiation. Fuel. 70: 595-598.

Stoner, D.L., Wey, J.E., Barrett, K.B., Jolley, J.G., Wright, R.B., and Dugan, P.R. 1990. Modification of water-soluble coal-derived products by dibenzothiophene-degrading microorganisms. Appl. Environ. Microbiol. 56(9): 2667-2676.

van Afferden, M., Tappe, D., Beyer, M., Truper, H.G., and Klein, J. 1993. Biochemical mechanisms for the desulfurization of coal-relevant organic sulfur compounds. Fuel. 72: 1365-1643.

Yamada, K., Minoda, Y., Kodama, K., Nakatani, S., and Akasaki, T. 1968. Isolation and identification of dibenzothiophene utilizing bacteria. Agric. Bio. Chem. 32: 840-845.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

1. อาหารเหลวปราศจากแหล่งกำมะถัน (sulfur-free mineral medium, SFMM)

ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)	2.2	กรัม
โปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	0.8	กรัม
แอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3)	3.0	กรัม
เฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3.6H_2O$)	0.01	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$)	0.01	กรัม
แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2.7H_2O$)	0.01	กรัม
กลูโคส (glucose)	10.0	กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	0.05	กรัม
น้ำกลั่น (distilled water)	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่างเท่ากับ	7.2	

นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันและอุณหภูมิมาตรฐาน (15 ปอนด์/ตารางนิ้ว, 121°ซ เป็นเวลา 15 นาที)

2. อาหารนิวเตรียนท์ บรอท - สารสกัดจากยีสต์ (Nutrient broth-yeast extract, NBYE)

นิวเตรียนท์ บรอท (nutrient broth)	8	กรัม
สารสกัดจากยีสต์	5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันและอุณหภูมิมาตรฐาน (15 ปอนด์/ตารางนิ้ว, 121° ซ เป็นเวลา 15 นาที)

3. อาหารแข็งนิวเตรียนท์ (Nutrient agar)

สารสกัดจากเนื้อ	3.0	กรัม
แบคโตเปปโตน	5.0	กรัม
ผงวุ้น	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันและอุณหภูมิมาตรฐาน (15 ปอนด์/ตารางนิ้ว, 121° ซ เป็นเวลา 15 นาที)

4. อาหารโอ-เอฟ เบซัล (OF Basal medium)

ทริปโตน	2.0	กรัม

โซเดียมคลอไรด์	5.0	กรัม
ไดโปแทสเซียมฟอสเฟต	0.3	กรัม
ผงวุ้น	2.0-3.0	กรัม
บรอมไธมอลบลู	0.03-0.80	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันและอุณหภูมิมาตรฐาน (15 ปอนด์/ตารางนิ้ว, 121° ซ เป็นเวลา 15 นาที)

5. อาหารเหลวฟีนอล เรด เบส (Phenol red broth base)

โปรติโอสเปปโตน	10.0	กรัม
สารสกัดจากเนื้อ	1.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5.0	กรัม
ฟีนอล เรด	0.018	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดด่างเท่ากับ	7.4	

นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันและอุณหภูมิมาตรฐาน (15 ปอนด์/ตารางนิ้ว, 121° ซ เป็นเวลา 15 นาที)

น้ำตาลที่ใช้ ได้แก่ กลูโคส (10 กรัม/อาหารเหลวฟีนอล เรด เบส 1 ลิตร)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

1. สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 โมลาร์

กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	49.7	มล.
เติมลงในน้ำกลั่นได้ให้ปริมาตรสุดท้ายเป็น	100.0	มล.

2. สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 โมลาร์

กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	8.3	มล.
เติมลงในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเป็น	100.0	มล.

3. สารละลายโปแทสเซียม ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ (potassium phosphate buffer) เข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ความเป็นกรดด่าง 7.0

ละลายโปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 13.6 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มล. ปรับความเป็นกรดด่างเป็น 7.0 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น

4. สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร)

โซเดียมคลอไรด์	0.85	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มล.

5. รีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford

โคแมสซี บริลเลียนท์ บลู จี 250	50.0	มก.
เอทธานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร)	25.0	มล.
กรดฟอสเฟอริกเข้มข้น 85 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร)	50.0	มล.
ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 500 มล. ด้วยน้ำกลั่น		

6. สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide solution) ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร)

สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร)	10.0	มล.
น้ำกลั่น	90.0	มล.

7. สารละลายโคแวค (Kovac's solution)

พาราไดเมทิลอะมิโนเบนซัลดีไฮด์ (P-dimethyaminobenzaldehyde)	5.0	กรัม
เอมิล หรือ บิวธิลแอลกอฮอล์ (amyl or butyl alcohol)	75.0	มล.
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	25.0	มล.

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในขวดสีชา

8. สารละลายเมธิลเรด (methyl red)

เมธิล เรด	1.0	กรัม
เอทธานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร)	300.0	มล.
น้ำกลั่น	200.0	มล.

9. สารละลายทดสอบโวค โพรคาเวอร์ (Voges-Prokaver test reagent)

สารละลาย ก

แอลฟาแนฟทอล (alpha-napthol)	5.0	มล.
เอทธานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร)	100.0	มล.

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชา

สารละลาย ข

โปแทสเซียมไฮดรอกไซด์	40.0	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มล.

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในขวดสีชา

10. สารละลายคริสตอลไวโอเล็ต (crystal violet solution)

คริสตอลไวโอเล็ต	4.0	กรัม
น้ำกลั่น	400.0	มล.

11. สารละลายแกรมไอโอดีน (gram's iodine solution)

ไอโอดีนคริสตอล	10.0	กรัม
โปแทสเซียมไดโอไดด์	0.5	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	50.0	มล.

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในน้ำกลั่นช้า ๆ แล้วจึงเติมไอโอดีนคริสตอลลงไป และเติมโปแทสเซียมไอโอไดด์เป็นลำดับสุดท้าย

12. สารละลายซาฟรานิน (safranin staning solution)

ซาฟรานิน	4.0	กรัม
น้ำกลั่น	200.0	มล.

13. สารละลายสีมาลาไคท์กรีน (malachite green solution)

มาลาไคท์กรีน	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	95.0	มล.

14. สารละลายบัฟเฟอร์ ทริส-อะซิเทต (Tris-acetate) เข้มข้น 1 โมลาร์ ความเป็นกรดด่าง 7.9

ละลายทริส เบส (Tris-base) 12.11 กรัมในน้ำกลั่น 80 มล. ปรับความเป็นกรดด่างด้วยกรดอะซิติกให้ได้เท่ากับ 7.9 ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันและอุณหภูมิมาตรฐาน (15 ปอนด์/ตารางนิ้ว, 121° ซ เป็นเวลา 15 นาที)

15. สารละลายไดโซเดียม เอทธิลีน ไดเอมีน เตตระอะซิเตท(disodium ethylene diamine tetraacetate, EDTA) เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ความเป็นกรดด่าง 8.0

ละลาย EDTA 18.61 กรัม ในน้ำกลั่น 80 มล. ปรับความเป็นกรดด่างให้ได้ 8.0 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (2 กรัมโดยประมาณ) EDTA จะไม่ละลายถ้าความเป็นกรดด่างของสารละลายต่ำกว่า 8.0 ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันและอุณหภูมิมาตรฐาน (15 ปอนด์/ตารางนิ้ว, 121° ซ เป็นเวลา 15 นาที)

16. โซเดียม โดเดซิล ซัลเฟต (sodium dodecyl sulfate, SDS) เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในสารละลายทริส-โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Tris-NaOH) เข้มข้น 1 โมลาร์

16.1 สารละลาย SDS เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร)

ละลาย SDS จำนวน 10 กรัม ในน้ำกลั่น 90 มล. ทำให้ร้อนที่อุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส เพื่อช่วยในการละลาย ปรับความเป็นกรดด่างให้เท่ากับ 7.2 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองผ่านแผ่นกรองมิลลิพอร์ขนาดรูพรุน 0.2 ไมครอน (โดยทั่วไปไม่มีความจำเป็นต้องผ่านกระบวนการทำให้ปราศจากเชื้อ)

16.2 สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Tris-NaOH) เข้มข้น 1 โมลาร์ ความเป็นกรดด่าง 12.6

ละลายทริส-เบส 12.11 กรัม ในน้ำกลั่น 80 มล. ปรับความเป็นกรดด่างให้เท่ากับ 12.6 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2 นอร์มอล ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันและอุณหภูมิมาตรฐาน (15 ปอนด์/ตารางนิ้ว, 121° ซ เป็นเวลา 15 นาที)

17. สารละลายไลซิง (lysing solution)

เติมสารละลายบัฟเฟอร์ทริส-โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลาร์ ความเป็นกรดด่าง 12.6 จำนวน 5 มล. ลงในสารละลาย SDS เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) จำนวน 30 มล. ผสมให้เข้ากัน ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

18. สารละลายฟีนอล:คลอโรฟอร์ม (phenol:chloroform) อัตราส่วน 1:1

18.1 สารละลายฟีนอลที่มีไฮดรอกซีควิโนลีน(hydroxyquinoline) ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร)

เติมไฮดรอกซีควิโนลีน 0.05 กรัม ลงในฟีนอลหลอมเหลว จำนวน 50 มล.

18.2 สารละลายคลอโรฟอร์ม (chloroform)

เติมไอโซเอมิล อัลกอฮอล์ (isoamyl alcohol) ลงในคลอโรฟอร์ม 48 มล.

นำสารละลายในข้อ 18.1 และ 18.2 มาผสมกันในอัตราส่วน 1:1 เก็บในที่มืออุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ข้อควรระวัง

1. ฟีนอลเป็นสารเคมีที่มีอันตราย มีลักษณะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง ก่อนใช้ต้องนำมาหลอมเหลวในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส โดยคลายเกลียวฝาขวดที่บรรจุฟีนอลเพื่อลดความดันภายในขวดที่จะเกิดขึ้นจากการที่ฟีนอลหลอมเหลว

2. ฟีนอลเป็นพิษต่อทางเดินหายใจ และทำให้ผิวหนังไหม้เกรียม

19. สารละลายบัฟเฟอร์เจล โลดดิง (gel loading)

(สารละลายกลีเซอรอล (glycerol) เข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในสารละลายทริส-อะซิเตทเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ความเป็นกรดด่าง 7.9 ที่มีบรอมครีซอล เพอเพิล (bromcresol purple) ความเข้มข้นสุดท้าย 0.25 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร))

ผสมกลีเซอรอล 5 มล. ลงในสารละลายบัฟเฟอร์ทริส-อะซิเทต เข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ความเป็นกรดด่าง 7.9 เติมบรอมครีซอล เพอเพิล 0.025 กรัม ละลายให้เข้ากัน ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อ

ที่ความดันและอุณหภูมิมาตรฐาน (15 ปอนด์/ตารางนิ้ว, 121° ซ เป็นเวลา 15 นาที) เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

20. สารละลายบัฟเฟอร์ E

(สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-อะซิเทตเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ความเป็นกรดด่าง 7.9 ที่มี EDTA เข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์)

ผสมสารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ จำนวน 200 ไมโครลิตร ลงในสารละลายบัฟเฟอร์ทริส-อะซิเทต ความเป็นกรดด่าง 7.9 เข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ จำนวน 20 มล. ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เท่ากับ 50 มล. ด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว

21. อะกาโรส เจล (agarose gel)

อะกาโรสเข้มข้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในสารละลายบัฟเฟอร์ E วิธีการเตรียม ละลายอะกาโรส 0.7 กรัม ในสารละลายบัฟเฟอร์ E 100 มล. หลอมอะกาโรสที่บรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ด้วยไมโครเวฟ โดยปิดปากขวดด้วย xylan wrap

22. สารละลายเอทิเดียม โบรไมด์ (ethidium bromide) เข้มข้น 2.5 มก./มล. ในสารละลายบัฟเฟอร์ E

ผสมสารละลายเอทิเดียม โบรไมด์เข้มข้น 2.5 มก./มล. ในน้ำกลั่น จำนวน 100 ไมโครลิตร ลงในสารละลายบัฟเฟอร์ E จำนวน 500 มล.

23. สารละลายบัฟเฟอร์ TAE

ผสมสารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ จำนวน 1 มล. ลงในสารละลายบัฟเฟอร์ทริส-อะซิเทต เข้มข้น 1 โมลาร์ จำนวน 20 มล. ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 500 มล. ด้วยน้ำกลั่น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

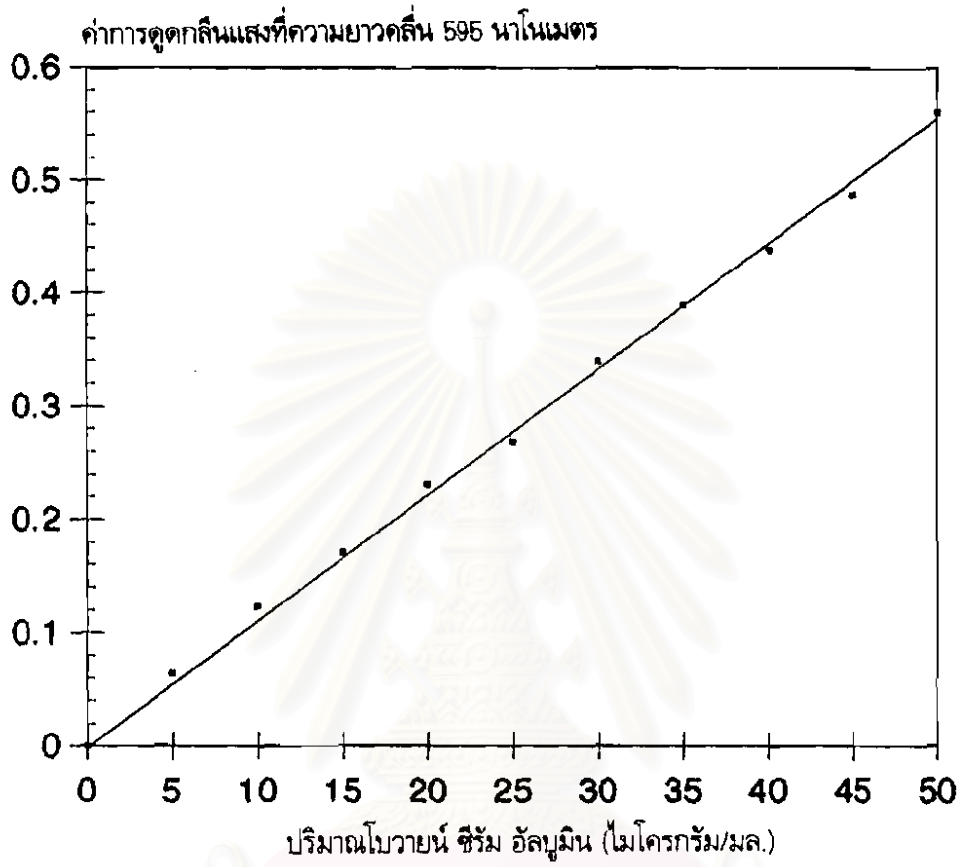
ภาคผนวก ค

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีการของ Bradford (1976)

นำสารละลายที่ต้องการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ปริมาตร 50 ไมโครลิตร มาใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายสีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (ภาคผนวก ข หมายเลข 5) ปริมาตร 2.5 มล. ผสมให้เข้ากัน นำส่วนผสมนี้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

คำนวณหาปริมาณโปรตีนจากกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโบวายน์ ซีรัม อัลบูมิน (bovine serum albumin) ที่ 5-50 ไมโครกรัม/มล. กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

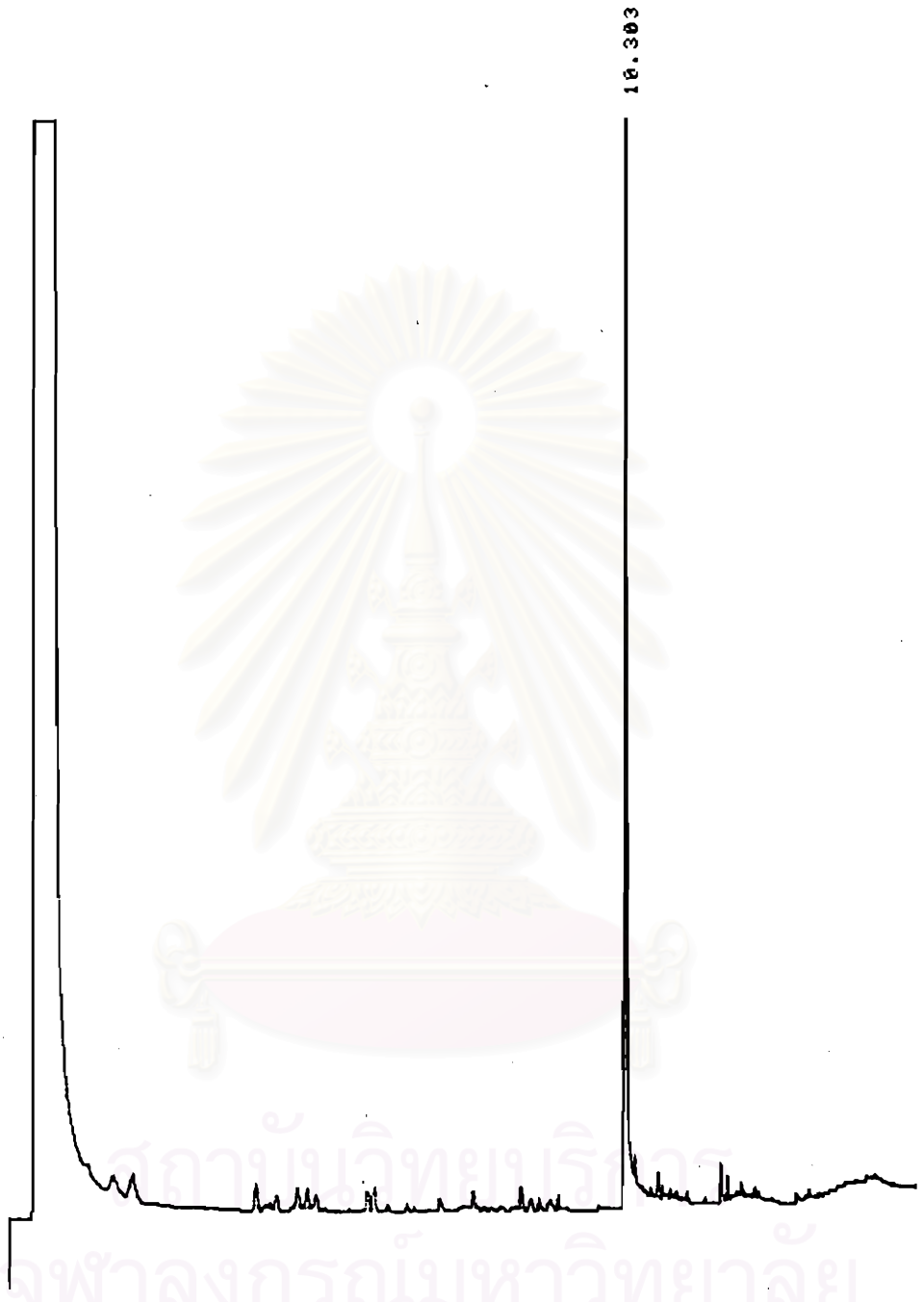
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



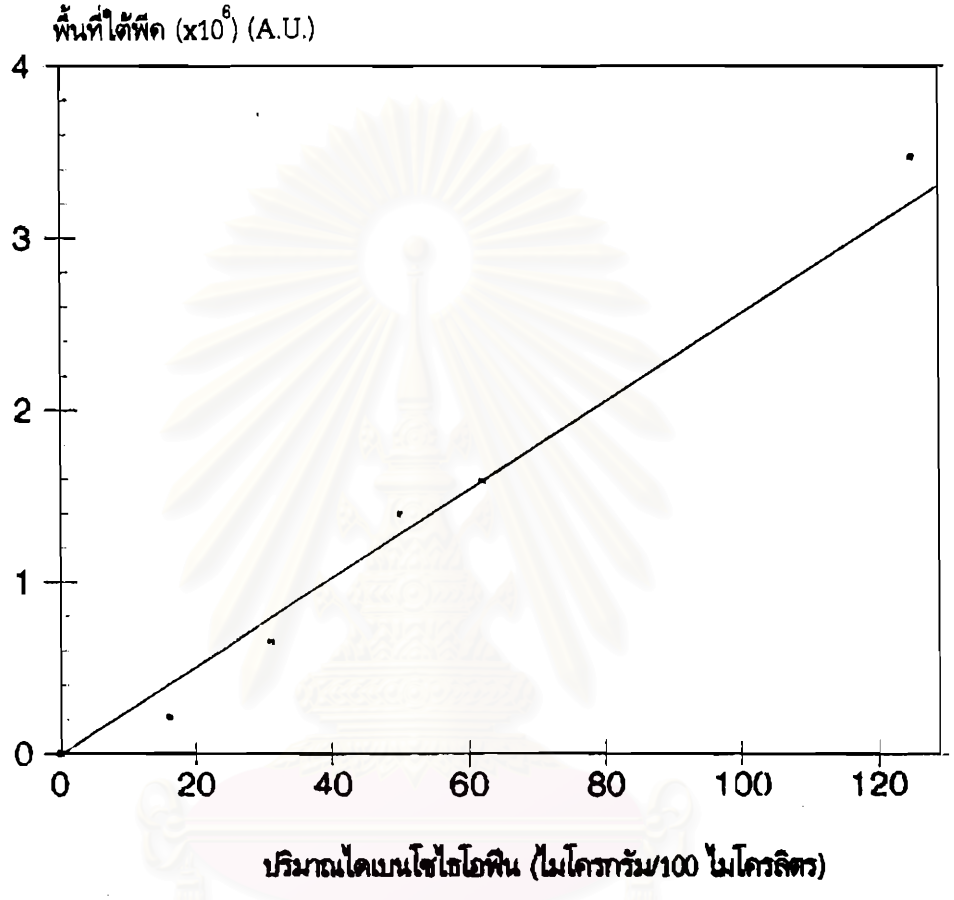
รูปที่ 24 กราฟมาตรฐานของโปรตีนโบวายน์ ซีรัม อัลบูมินเพื่อใช้หาความเข้มข้นของโปรตีนทดสอบ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ไดเบนโซไธโอฟีน

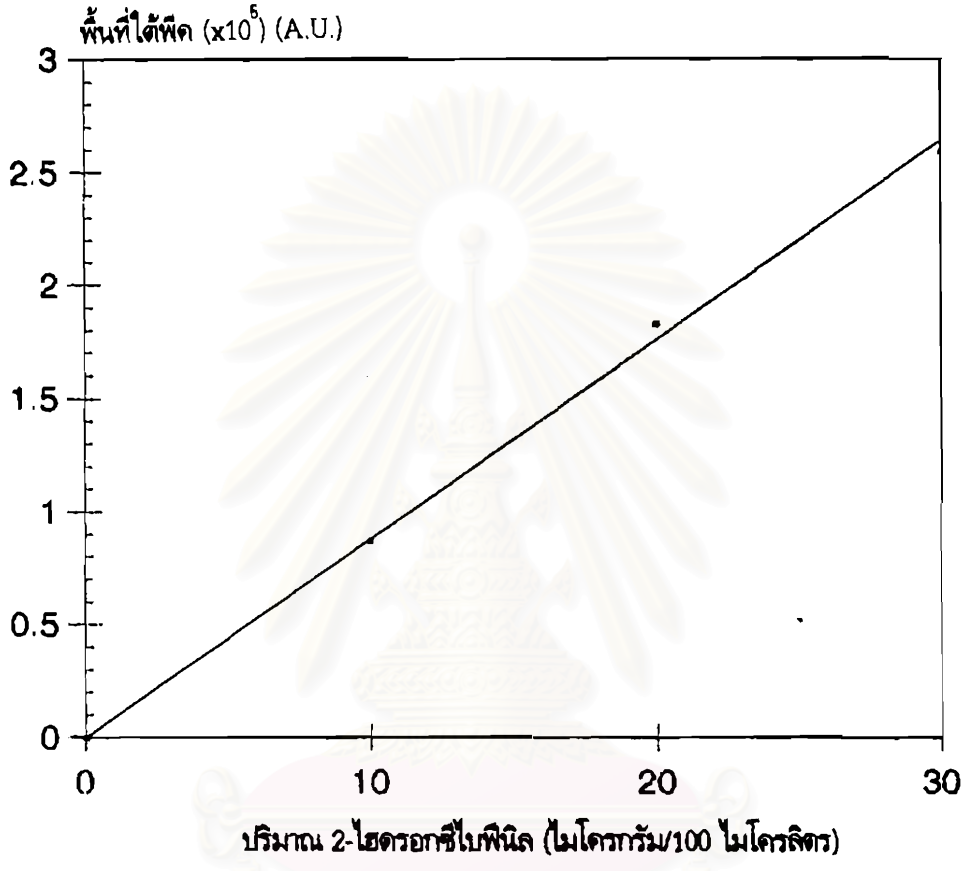


รูปที่ 25 โครมาโตแกรมแสดงผลการวิเคราะห์สารมาตรฐานของไดเบนโซไธโอฟีนโดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟฟี



รูปที่ 26 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับปริมาณไดเบนโซไธโอฟีน โดยวิธีวิเคราะห์ด้วยแก๊ส โครมาโตกราฟฟี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 27 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับปริมาณ 2-ไฮดรอกซีไบฟีนิล โดยวิธีวิเคราะห์ด้วยแก๊ส โครมาโตกราฟฟี

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางสาวพรพิมล เปรมชัยพร เกิดเมื่อวันที่ 16 พฤษภาคม พ.ศ. 2510 จบการศึกษาระดับปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า ธนบุรี ในปีการศึกษา 2532 เข้าศึกษาในภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2536

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย