

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารละลายและสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. การเตรียมสารละลายคาร์บอเนต-ไบคาร์บอเนตบัฟเฟอร์ (carbonate-bicarbonate buffer) (Bates and Bower 1956 อ้าง โดย Stoll and Blanchard, 1990)

เตรียมได้จากการผสมสารละลาย A กับสารละลาย B ตามพีเอชที่ต้องการ

สารละลาย A : 0.05 M anhydrous sodium carbonate

สารละลาย B : 0.05 M sodium bicarbonate

พีเอช	สารละลาย A	สารละลาย B
9.2	4.0	46.0
9.3	7.5	42.5
9.4	9.5	40.5
9.5	13.0	37.0
9.6	16.0	34.0
9.7	19.5	30.5
9.8	22.0	28.0
9.9	25.0	25.0
10.0	27.5	22.5
10.1	30.0	20.0
10.2	33.0	17.0
10.3	35.5	14.5
10.4	38.5	11.5
10.5	40.5	9.5
10.6	42.5	7.5
10.7	45.0	5.0

2. การเตรียมสารละลายทริส-ไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ (Tris-HCl buffer) (Bates and Bower 1956 อ้าง
โดย Stoll and Blanchard, 1990)

เตรียมได้จากการผสมสารละลาย A 50 มิลลิลิตร กับสารละลาย B ตามพีเอชที่ต้องการ
สารละลาย A : 0.05 M Tris (hydroxymethyl) aminomethane
สารละลาย B : 0.05 M HCl

พีเอช	สารละลาย B
7.0	46.6
7.1	45.7
7.2	44.7
7.3	43.4
7.4	42.0
7.5	40.3
7.6	38.5
7.7	36.6
7.8	34.5
7.9	32.0
8.0	29.2
8.1	26.2
8.2	22.9
8.3	19.9
8.4	17.2
8.5	14.7
8.6	12.4
8.7	10.3
8.8	8.5
8.9	7.0
9.0	5.7

3. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์แอกทิวิตีของเอนไซม์โปรติเอส

บัฟเฟอร์ที่ใช้ในการหยุดปฏิกิริยา (stop buffer) เตรียมโดยใช้ trichloroacetic acid 0.1 M (1.6339 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร) , sodium acetate 0.22 M (ซังโซเคียมคลอไรด์ 12.87 กรัม เติมกรดอะซิติก 1.32 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร) acetic acid 0.33 M ในอัตราส่วน 1:1:1

4. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

3.1 การเตรียมและหาความเข้มข้นมาตรฐานของสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.1 และ 0.02 นอร์มัล

วิธีเตรียม

ตวงกรดเกลือเข้มข้นปริมาณ 9 มิลลิลิตรใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1 ลิตรซึ่งมีน้ำกลั่นบรรจุอยู่บ้าง แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากันได้เป็นสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่น 5 เท่าจะได้สารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.02 นอร์มัล

วิธีหาความเข้มข้นมาตรฐาน

ซังโซเคียมเตตราโบเรต (Borax : $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) ให้ได้น้ำหนักแน่นอน 0.4 กรัม (สำหรับความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล) ใส่ลงในขวด erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาณ 50 มิลลิลิตร ทำซ้ำ 3 ขวดแต่ละขวดเติมอินดิเคเตอร์ 2.-3 แล้วไตเตรตกับสารละลายกรดเกลือที่เตรียมไว้ข้างต้น สีของสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูที่จุดยุติสามารถคำนวณความเข้มข้นที่แน่นอนของกรดเกลือได้จาก

ความเข้มข้นของ

$$\text{สารละลายเกลือ (นอร์มัล)} = \frac{\text{น้ำหนักของโซเดียมเตตราโบเรต (กรัม)}}{\text{ปริมาตรสารละลายกรดเกลือที่ใช้ไตเตรต (มิลลิลิตร)} \times 0.1907}$$

(สมมูลของโซเดียมเตตราโบเรต = 190.72)

3.2 การเตรียมอินดิเคเตอร์ผสมสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีน

1. ซัง 0.125 กรัม เมทิลเรด และ 0.082 กรัม เมทิลีนบลูละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ปริมาณ 100 มิลลิลิตร

2. ซัง 0.1 กรัม โบโรโมครีซอลกรีนละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

3. ผสมสารละลายจากข้อ 1 และข้อ 2 ในอัตราส่วนข้อ 1 ต่อข้อ 2 เท่ากับ 5 : 1