

สารบัญ

		หน้า
บทที่ 1	ข้อควรระวังและคำแนะนำในห้องปฏิบัติการ	1 - 9
	ห้องปฏิบัติการและข้อปฏิบัติต่าง ๆ ที่ควรทราบ	1
	คำแนะนำและข้อปฏิบัติต่าง ๆ ในการทำปฏิบัติการวิชา TN 312 (ชีวเคมีและเทคโนโลยี)	7
บทที่ 2	เทคนิคพื้นฐานของการทำปฏิบัติการทางชีวเคมี	10 - 40
	หน่วยทางชีวเคมี	10
	เทคนิคการผสมสาร	11
	การใช้เครื่องแก้ว	12
	การใช้เครื่องมือหมุนเหวี่ยง	15
	การใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสง	20
	โครมาโตกราฟี	27
	อิเล็กโตรโพลีซิส	36
บทที่ 3	การแยกและวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตชนิดต่าง ๆ	41 - 69
	วัตถุประสงค์	41
	การทดลอง ตอนที่ 1 การสกัดแยกแป้งจากมัน	54
	การทดลอง ตอนที่ 2 การวิเคราะห์ส่วนประกอบของแป้งที่สกัดแยกได้จากตอนที่	54
	การทดลอง ตอนที่ 3 การทดสอบคาร์โบไฮเดรตชนิดต่าง ๆ	56
	การทดลอง ตอนที่ 4 การวิเคราะห์หาปริมาณ glucose	58
	การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง	59
	รายงานผลการทดลอง	61
คำถาม	67	
บทที่ 4	การสกัดแยกและวิเคราะห์ lipid	70 - 84
	วัตถุประสงค์	70

	หน้า
บทนำ	70
การทดลอง ตอนที่ 1 การสกัดแยกน้ำมันจากเมล็ดพืช	72
การทดลอง ตอนที่ 2 การวิเคราะห์หาปริมาณ triglyceride ในน้ำมันที่สกัดได้	74
การทดลอง ตอนที่ 3 การวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol จากสารตัวอย่าง	75
การเตรียมสารละลายบางชนิดที่ใช้ในการทดลอง	76
รายงานผลการทดลอง	77
คำถาม	82
บทที่ 5 การสกัดแยกโปรตีนจากพืชบางชนิด	85 - 105
วัตถุประสงค์	85
บทนำ	85
การทดลอง ตอนที่ 1 การสกัดแยกและตกตะกอนโปรตีนจากพืช	91
การทดลอง ตอนที่ 2 การทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยใช้ chromatography ชนิด ion-exchange	94
การทดลอง ตอนที่ 3 การตรวจหาและ เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนและ enzyme activity จากที่สกัดได้และทำให้บริสุทธิ์	94
การเตรียมสารละลายบางชนิดที่ใช้ในการทดลอง	95
รายงานผลการทดลอง	97
คำถาม	103
บทที่ 6 การสกัดแยกกรดนิวคลีอิกจากแหล่งต่าง ๆ	106 - 122
วัตถุประสงค์	106
บทนำ	106
การทดลองตอนที่ 1 การสกัดแยก DNA จากเซลล์เลือดแดงไก่	109
การทดลองตอนที่ 2 การสกัดแยก RNA จากยีสต์	111
การทดลองตอนที่ 3 การวิเคราะห์หาปริมาณ DNA และ RNA จากสารที่สกัดได้จาก ตอนที่ 1 และ 2	112
การเตรียมสารละลายบางชนิดที่ใช้ในการทดลอง	114
รายงานผลการทดลอง	116
คำถาม	121

	หน้า
บทที่ 7 การสกัดแยกพลาสมิด (plasmid) จากแบคทีเรีย	123 - 135
วัตถุประสงค์	123
บทนำ	123
การทดลองตอนที่ 1 การสกัดพลาสมิดจากเชื้อแบคทีเรีย	127
การทดลองตอนที่ 2 การวิเคราะห์พลาสมิดที่สกัดได้โดยวิธี electrophoresis	128
การเตรียมสารละลายบางชนิดที่ใช้ในการทดลอง	130
รายงานผลการทดลอง	132
คำถาม	134
บทที่ 8 การตรวจสอบประสิทธิภาพในการทำ blanching	136 - 141
วัตถุประสงค์	136
บทนำ	136
การทดลอง	137
รายงานผลการทดลอง	139
คำถาม	141
หนังสืออ้างอิง	142
ภาคผนวก	143 - 154
1. การเตรียมสารละลาย buffer บางชนิด ตั้งแต่ pH 2.2-13	143
2. การเตรียมสารละลาย ammonium sulphate ที่ %saturation (ความอิ่มตัว) ต่าง ๆ กัน	148
3. การเตรียมสารละลายเพื่อใช้เป็นตัวกลางการเกิด density gradient	150
4. ค่าความเข้มข้นและความถ่วงจำเพาะของกรดเข้มข้นชนิดต่าง ๆ และแอมโมเนียเข้มข้นที่ใช้ในปฏิบัติการชีวเคมี	151
5. การเตรียมอินดิเคเตอร์ของกรด-เบส ชนิดต่าง ๆ	152
6. กัมมันภาพรังสีที่ใช้ในงานวิจัยทางด้านชีวเคมี	153
7. การแปลงหน่วยความดันและอุณหภูมิที่ใช้ในการทำ autoclave	155
ดัชนี	156 - 163

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1.1 แสดงเครื่องหมายต่าง ๆ เกี่ยวกับทางด้านความปลอดภัยของผู้ใช้ห้องปฏิบัติการที่ควรทราบ	1
รูปที่ 1.2 แสดงอุปกรณ์ป้องกันอันตรายต่าง ๆ ของผู้ทำการทดลอง	2
รูปที่ 1.3 แสดงเครื่องหมายต่าง ๆ ของสารเคมีที่มีอันตรายในลักษณะต่าง ๆ กัน	3
รูปที่ 1.4 แสดงเครื่องดับเพลิงชนิดต่าง ๆ และการใช้ดับเพลิงแต่ละชนิด	4
รูปที่ 1.5 แสดงเครื่องหมายของการใช้แก๊สมีนตรังสีในบริเวณนั้น ๆ	5
รูปที่ 2.1 แสดงการผสมสารแบบต่าง ๆ	12
รูปที่ 2.2 แสดงเครื่องแก้วชนิดต่าง ๆ	15
รูปที่ 2.3 เป็น nomogram แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่า rpm หรือ rev/min, RCF หรือ xg และรัศมีของการหมุน (radius)	17
รูปที่ 2.4 แสดงเครื่องหมุนเหวี่ยงชนิดความเร็วต่ำ	18
รูปที่ 2.5 แสดงเครื่องหมุนเหวี่ยงชนิดความเร็วสูง	19
รูปที่ 2.6 แสดง absorption spectrum ของ riboflavin	21
รูปที่ 2.7 แสดงกราฟเส้นมาตรฐานและการหาความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง	23
รูปที่ 2.8 แสดงแผนภาพส่วนประกอบของเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)	23
รูปที่ 2.9 แสดงเครื่อง Spectronic 20	24
รูปที่ 2.10 แสดงเครื่อง Spectronic 21	25
รูปที่ 2.11 แสดงเครื่อง Shimadzu Spectrophotometer UV 120-02	26
รูปที่ 2.12 แสดงขั้นตอนในการแยกสารโดยใช้ adsorption chromatography	28
รูปที่ 2.13 แสดงขั้นตอนในการแยกสารโดยใช้ ion-exchange chromatography ชนิด anion exchanger	29
รูปที่ 2.14 แสดงสูตรโครงสร้างของ polymer บางตัวที่นำมาใช้เป็นเรซิน	31
รูปที่ 2.15 แสดงโครงสร้างของเรซินชนิด anion exchanger และ cation exchanger	32
รูปที่ 2.16 แสดง chromatogram ที่ได้จากการแยกสารต่าง ๆ	33
รูปที่ 2.17 แสดงขั้นตอนในการแยกสารโดยใช้ gel filtration หรือ exclusion chromatography	34

	หน้า
รูปที่ 2.18 แสดง chromatogram ในการแยกโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลต่าง ๆ กัน	36
รูปที่ 2.19 แสดง เครื่องสำเร็จของอิเล็กโตรโพลีซิส	37
รูปที่ 2.20 แสดงขั้นตอนในการแยกสารโคยใช้ระบบ SDS-PAGE	38
รูปที่ 2.21 แสดง electrophoresis pattern ของ โปรตีนและกราฟความสัมพันธ์ของ log MW และอัตราการเคลื่อนที่	39
รูปที่ 2.22 แสดงขั้นตอนของการเกิด Isoelectric focusing	40
รูปที่ 3.1 แสดงสูตรโครงสร้างของ monosaccharides พวก "aldose"	42
รูปที่ 3.2 แสดงสูตรโครงสร้างของ monosaccharides พวก "Ketose"	43
รูปที่ 3.3 แสดงสูตรโครงสร้างของ disaccharides	46
รูปที่ 3.4 แสดงสูตรโครงสร้างของ polysaccharides บางตัว	46
รูปที่ 3.5 แสดงสูตรโครงสร้างของ amylose, amylopectin และ glycogen	47
รูปที่ 3.6 แสดงการรวมตัวของ amylose กับ I ₂ และปฏิกิริยาการเกิด furfural หรืออนุพันธ์ furfural	48
รูปที่ 3.7 แสดงการเกิด tautomerism ของ D-glucose	51
รูปที่ 4.1 แสดงสูตรโครงสร้างของ triglyceride	71
รูปที่ 4.2 แสดงสูตรโครงสร้างของ cholesterol	72
รูปที่ 5.1 แสดงการเตรียม column	96
รูปที่ 6.1 แสดงสูตรโครงสร้างของ nitrogenous base	106
รูปที่ 6.2 แสดงสูตรโครงสร้างของสาย DNA และ RNA	107
รูปที่ 7.1 แสดงรูปร่างต่าง ๆ ของ DNA	12:
รูปที่ 7.2 แสดงการเคลื่อนที่ของพลาสมิดที่มีรูปร่างต่าง ๆ กันใน agarose gel	125
รูปที่ 7.3 แสดงการจัดเตรียม gel chamber สำหรับทำ electrophoresis ของ DNA	129

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 แสดงหน่วยพื้นฐานที่ใช้ทางชีวเคมี โดยมีสัดส่วนแตกต่างกันด้วยเลขยกกำลัง 3	10
ตารางที่ 2.2 แสดง resin ชนิดต่าง ๆ ที่เป็น copolymer ของ styrene และ divinyl benzene	30
ตารางที่ 2.3 แสดง resin ชนิดต่าง ๆ ที่เป็น polysaccharide	32
ตารางที่ 2.4 แสดงคุณสมบัติของ gel ชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ใน gel filtration หรือ exclusion chromatography	35
ตารางที่ 3.1 แสดงแหล่งที่พบและความสำคัญของ monosaccharides และ disaccharides ที่พบทั่วไป	44
ตารางที่ 3.2 แสดงคุณสมบัติบางประการและแหล่งที่พบของ polysaccharides	45
ตารางที่ 5.1 แสดงชนิดของ detergent ที่ใช้ในการละลายโปรตีน	87
ตารางที่ 5.2 แสดงชนิดของ inhibitor และปริมาณความเข้มข้นที่นิยมใช้	88
ตารางที่ 7.1 แสดงความเข้มข้นของ agarose gel ที่ใช้ในการแยก DNA ขนาดต่าง ๆ กัน	125