

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์เซลล์เอกสาร แอคติวิตี

ความสามารถการทำงานของเอนไซม์ในหน่วยกระดาษกรอง (Filter Paper Unit, FPU)

อุปกรณ์

1. กระดาษกรอง เบอร์ 1 ขนาด 1×6 เซนติเมตร (50 มิลลิเมตร)
2. เครื่องอั่งน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
3. หลอดทดลองขนาดกลางชนิดมีฝาปิด
4. ปิเปตขนาด 1 มิลลิเมตร
5. นาฬิกาจับเวลา

สารเคมี

- สารละลายโซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 5
- สารละลายกรดไคโนโตรซาลิไซลิก

การเตรียมโซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH5: ชั่งโซเดียมอะซิเตต 5.1168 กรัม ปิเปตกรดอะซิติก 2.15 ml ละลายสารละลายทั้งสองในบีกเกอร์แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1000 ml วัดค่า pH ของโซเดียมอะซิเตตที่เตรียมได้โดยมีข้อกำหนด pH =5 หาก pH > 5.0 ใช้กรดอะซิติกปรับ หาก pH < 5.0 ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ปรับ

การวิเคราะห์หาค่าเซลล์แลสแอคทีวิตี: ตัดกระดาษกรองเบอร์ 1 ขนาด 1×6 cm พับใส่หลอดทดลองขนาดเล็กหลอดละ 1 แผ่น ปิเปตโซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH5 2 ml สำหรับ Blank และสำหรับตัวอย่าง ปิเปตโซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH5 1 ml และปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 ml ปิดฝา นำสารละลายที่ได้ไปต้มในน้ำอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือด 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำมาวางให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงนำสารละลายดังกล่าวมาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge เป็นเวลา 30 นาที ที่ความเร็วรอบ 3500 rpm เมื่อปั่นเหวี่ยงเสร็จแล้ว ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 0.5 ml แล้วเติม DNS 5 ml ปิดฝา นำไปต้มในน้ำเดือด อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ทำให้เย็นทันทีในน้ำเย็น นาน 5 นาที จากนั้นนำมาวางที่อุณหภูมิห้องให้ฟ้าที่หลอดหมดแล้วจึงนำไปวัดค่า ABS ที่ความยาวคลื่นแสง 570 nm คำนวณเซลล์แลสแอคทีวิตีจากสูตร $FPU (g/L) = ABS/0.0402$