

## การทดลองที่ 9

## เจลฟิльтраชันและไดอะไลซิส

อ.ชัยวัฒน์ วามวรรรัตน์

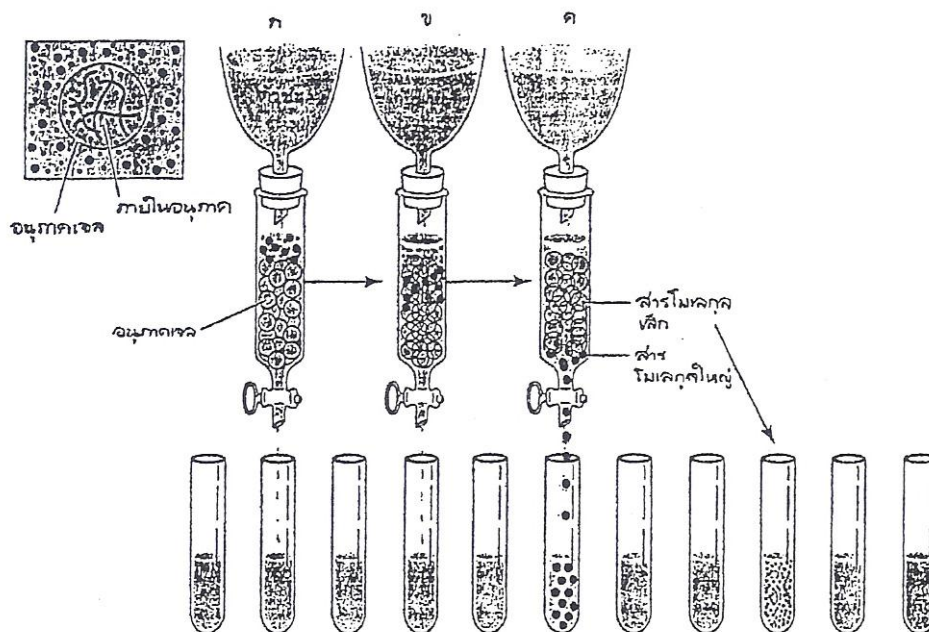
## 1. เจลฟิльтраชัน (Gel filtration)

เป็นเทคนิคโครมาโทกราฟีอีกหลักการหนึ่ง ซึ่งแยกสารต่างๆออกจากกันตามขนาดโมเลกุล เมื่อนำไปผ่านคอลัมน์บรรจุเจล วิธีการนี้เรียกว่าเป็น size exclusion chromatography หรือ molecular sieve chromatography เจลที่ใช้ผลิตขึ้นจากพอลิเมอร์ที่เป็นเดกซ์แทรน (dextran) หรืออะกาโรส (agarose) หรือ พอลิอะคริลาไมด์ (polyacrylamide) ซึ่งมีชื่อการค้าต่างๆ กันดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตัวอย่างเจลชนิดต่างๆ

ชื่อการค้า	ชนิดของโพลิเมอร์	ขนาดโมเลกุลที่แยกได้ (ดาลตัน)
Sephadex G-10	Dextran	0 – 700
Sephadex G-25	Dextran	1,000 – 5,000
Sephadex G-50	Dextran	1,500 – 30,000
Sephadex G-100	Dextran	4,000 – 150,000
Sephadex G-250	Dextran	5,000 – 600,000
Bio-gel P-2	Polyacrylamide	100 – 1,800
Bio-gel P-5	Polyacrylamide	1,000 – 6,000
Bio-gel P-10	Polyacrylamide	1,500 – 20,000
Bio-gel P-30	Polyacrylamide	2,500 – 40,000
Bio-gel P-100	Polyacrylamide	5,000 – 100,000
Bio-gel P-300	Polyacrylamide	6,000 – 400,000
Sepharose 6 B	Agarose	10,000 – 4,000,000
Sepharose 4 B	Agarose	60,000 – 20,000,000
Sepharose 2 B	Agarose	70,000 – 40,000,000

พอลิเมอร์เหล่านี้ถูกเชื่อมเข้าด้วยกันเป็นโครงข่ายสามมิติอนุภาคเม็ดเล็ก ๆ ที่มีสมบัติพองตัวได้ในน้ำแต่ไม่ละลายน้ำ ภายนอกมีรูพรุนที่ยอมให้น้ำหรือสารโมเลกุลขนาดเล็กกว่ารูพรุนผ่านเข้าไปในเม็ดเจลได้ สารโมเลกุลขนาดใหญ่กว่ารูพรุนผ่านเข้าไปในเม็ดเจลไม่ได้ จึงถูกชะออกมาตามช่องว่างระหว่างเม็ดเจล เม็ด เจลแต่ละชนิดมีขนาดรูพรุนที่แตกต่างกัน ดังนั้นในการแยกสารโมเลกุลขนาดต่างๆ กัน จะต้องเลือกชนิดของเม็ดเจลที่มีขนาดรูพรุนเหมาะสมที่สามารถแยกสารแต่ละชนิดออกมาได้อย่างชัดเจน ช่วงขนาดโมเลกุลที่แยกได้ของเม็ดเจลแต่ละชนิดสรุปไว้ในตารางที่ 1



รูปที่ 1 การแยกสารโดยวิธีเจลฟิลเตรชัน

การแยกสารที่มีขนาดต่างกันโดยผ่านคอลัมน์เจลมีขั้นตอนที่ดำเนินไปดังรูปที่ 1 เริ่มต้นโดยการเติมสารละลายผสมที่มีสารขนาดโมเลกุลใหญ่และเล็กผสมรวมกันลงบนผิวเจลที่บรรจุในคอลัมน์ (รูป ก) จากนั้นเติมตัวชะ ซึ่งจะชะสารผ่านเข้าไปในคอลัมน์เจล ภายในคอลัมน์เจลสามารถแบ่งพื้นที่ออกได้เป็น 2 บริเวณ คือ บริเวณภายในเม็ดเจลและบริเวณช่องว่างภายนอกเม็ดเจล สารโมเลกุลขนาดใหญ่ที่ไม่สามารถผ่านรูพรุนเข้าไปภายในเม็ดเจลจะเคลื่อนที่อยู่เฉพาะบริเวณช่องว่างภายนอกเม็ดเจล ดังนั้นจึงเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ได้อย่างรวดเร็วและถูกชะออกมาก่อน ขณะที่สารโมเลกุลขนาดเล็กมีการเคลื่อนที่และกระจายตัวอยู่ทั้งสองบริเวณ จะเคลื่อนที่อย่างช้า ๆ และถูกชะออกมาภายหลัง (รูป ข และ ค) ปริมาตรของตัวชะที่ใช้ชะสารโมเลกุลขนาดเล็กผ่านออกมาจากคอลัมน์จึงมากกว่าปริมาตรของตัวชะที่ใช้ชะสารโมเลกุลขนาดใหญ่ออกจากคอลัมน์ การที่ต้องใช้ตัวชะเป็นปริมาตรเท่าใดในการชะสารซึ่งมีขนาดโมเลกุลขนาดหนึ่งผ่านออกจากคอลัมน์นั้น สามารถหาได้จากความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ที่เขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$V_e = V_0 + K_d V_i$$

เมื่อ  $V_e$  (elution volume) คือ ปริมาตรของตัวชะที่ใช้ชะสารที่มีขนาดโมเลกุลขนาดหนึ่งออกจากคอลัมน์

$V_0$  (void volume) คือ ปริมาตรของบริเวณภายนอกเม็ดเจลทั้งหมด คิดเฉพาะในส่วน of คอลัมน์ที่มีเจลบรรจุอยู่

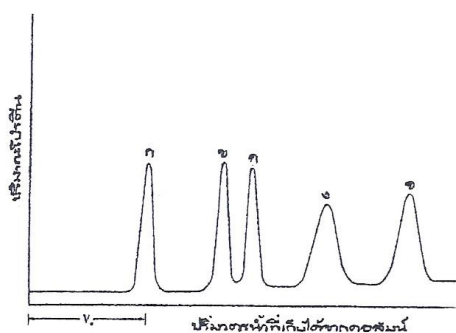
$V_i$  (volume of solvent inside the gel particles) คือ ปริมาตรของบริเวณที่อยู่ภายในเม็ดเจลทั้งหมดทุกอนุภาค

$K_d$  คือ ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสารระหว่างบริเวณภายในอนุภาคเจลและบริเวณภายนอกอนุภาคเจล

สารที่ไม่สามารถผ่านเข้าไปในอนุภาคเจลได้เลย มีค่า  $K_d$  เป็น 0 และใช้ปริมาตรของตัวชะในการชะสารผ่านออกมาจากคอลัมน์ หรือ  $V_e$  เท่ากับ  $V_0$  ส่วนสารที่สามารถผ่านเข้าไปในอนุภาคเจลได้ ค่า  $K_d$  ของสารพวกนี้อยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 ในกรณีที่สารมีค่า  $K_d = 1$   $V_e$  ของสารนี้เท่ากับ  $V_0 + V_i$

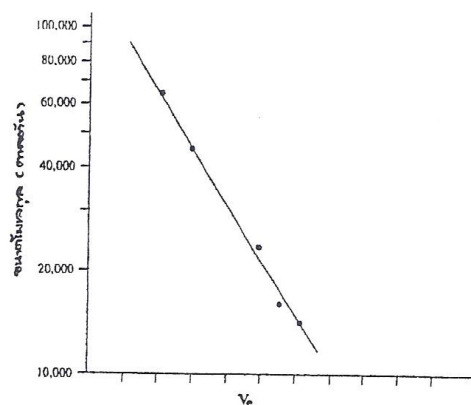
เทคนิคเจลฟิลเตรชันนี้มีประโยชน์มากในทางชีวเคมี เช่น

1. การแยกสารชีวโมเลกุล เช่น โปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลแตกต่างกันออกจากกัน เพื่อให้โปรตีนที่เราต้องการมีความบริสุทธิ์สูงขึ้น
2. การหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีน ตัวอย่างโปรตีนที่ใช้ไม่จำเป็นต้องมีความบริสุทธิ์สูง และต้องมีโปรตีนมาตรฐานที่บริสุทธิ์และทราบน้ำหนักโมเลกุล เพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน โปรตีนมาตรฐานถูกเติมในคอลัมน์ที่เตรียมอย่างประณีต และชะโปรตีนมาตรฐานแต่ละตัวออกจากคอลัมน์ หากค่า  $V_e$  ของโปรตีนมาตรฐานแต่ละตัวจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโปรตีนและปริมาตรของตัวชะที่เก็บได้จากคอลัมน์ ดังในรูปที่ 2 จากนั้นนำค่า  $V_e$  ที่ได้มาเขียนกราฟโดยแกน Y เป็นน้ำหนักโมเลกุลในสเกลเชิงล็อก (log scale) และแกน X เป็นปริมาตรที่ใช้ในการชะ เส้นกราฟที่ได้เป็นเส้นตรง ดังในรูปที่ 3 หากค่า  $V_e$  ของโปรตีนตัวอย่างโดยใช้คอลัมน์เจลอันเดิมแล้วนำมาอ่านค่าน้ำหนักโมเลกุลกับกราฟมาตรฐาน



รูปที่ 2 กราฟการชะโปรตีนมาตรฐานแต่ละชนิด

- ก = hemoglobin ข = egg albumin  
 ค = chymotrypsinogen ง = myoglobin  
 จ = cytochrome C



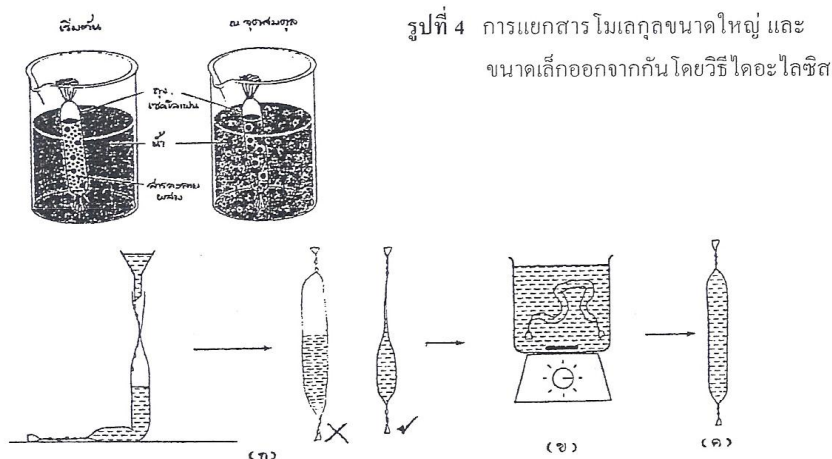
รูปที่ 3 กราฟมาตรฐานของโปรตีนมาตรฐาน

3. การแยกโปรตีนและเกลือออกจากกัน (desalting) ตะกอนโปรตีนที่ได้หลังการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตยังคงมีเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตปนอยู่ การกำจัดออกทำได้ง่าย โดยละลายตะกอนโปรตีนด้วยบัฟเฟอร์ปริมาณน้อยๆ แล้วเติมลงในคอลัมน์เจล เจลที่เลือกใช้ต้องกันโปรตีนไม่ให้เข้าไปภายในเม็ดเจล คือให้โปรตีนมีค่า  $K_d$  เป็น 0 สำหรับเจลชนิดนั้นและให้เกลือเข้าไปภายในเม็ดเจลได้สะดวก คือให้มีค่า  $K_d$  ที่สูงกว่ามาก โปรตีนจึงถูกชะด้วยบัฟเฟอร์ออกมาจากคอลัมน์ก่อนเกลือ

4. การเปลี่ยนบัฟเฟอร์ของโปรตีน เมื่อต้องการเปลี่ยนการละลายของโปรตีนในบัฟเฟอร์ชนิดหนึ่งไปสู่บัฟเฟอร์ชนิดใหม่ ทำได้โดยเติมโปรตีนในสารละลายบัฟเฟอร์เติมลงในคอลัมน์เจลที่อยู่ในบัฟเฟอร์ชนิดใหม่ แล้วชะด้วยบัฟเฟอร์ชนิดใหม่ เจลที่ใช้ต้องกันโปรตีนไม่ให้เข้าสู่ภายในเม็ดเจลเลย โปรตีนจะผ่านเข้ามาอยู่ในบัฟเฟอร์ชนิดใหม่และออกจากคอลัมน์อย่างรวดเร็ว ส่วนบัฟเฟอร์ชนิดเดิมจะออกมาในภายหลัง

## 2. ไตอะไลซิส (dialysis)

เป็นวิธีการที่แยกสารออกจากกันโดยใช้เยื่อบาง ซึ่งมีขนาดรูขุมให้สารโมเลกุลเล็กแพร่ผ่านได้และกั้นการผ่านของสารโมเลกุลใหญ่ (semipermeable membrane) วัสดุที่ใช้ทำเยื่อบางมักเป็นเซลลูโลสแอซีเตท (cellulose acetate) หรือเรียกกันทั่วไปว่า เซลโลเฟน (cellophane) เมื่อนำสารละลายผสมของสารโมเลกุลใหญ่และสารโมเลกุลเล็กใส่ลงในถุงเซลโลเฟนแล้วนำไปแช่ในน้ำ สารโมเลกุลใหญ่ไม่สามารถผ่านเยื่อบางได้จะยังคงอยู่ในถุง ส่วนสารโมเลกุลเล็กสามารถแพร่ผ่านออกมานอกถุงได้ โดยกระจายตัวจากภายในถุงซึ่งมีความเข้มข้นสูงออกสู่ภายนอกถุงที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า เมื่อถึงภาวะสมดุล ความเข้มข้นของสารโมเลกุลเล็กภายในถุงและภายนอกถุงจะเท่ากัน ดังในรูปที่ 4 ถ้ามีการเปลี่ยนน้ำภายนอกถุงให้คงไว้ซึ่งความเข้มข้นต่ำอยู่เสมอ สารโมเลกุลเล็กจะแพร่ออกมาได้เรื่อยๆ จนเกือบหมด การกวนน้ำภายนอกถุงและให้ถุงเซลโลเฟนเคลื่อนไหวอยู่ตลอดเวลา ช่วยให้ถึงภาวะสมดุลได้เร็วขึ้น ข้อพึงระวังในการเลือกใช้วิธีนี้คือ การเกิดออสโมซิส (osmosis) เมื่อความเข้มข้นของสารโมเลกุลเล็กในถุงเซลโลเฟนมีอยู่สูง จะทำให้น้ำผ่านเข้าไปในถุงในตอนแรกอย่างมากก่อนที่จะสารโมเลกุลเล็กเคลื่อนออกจากถุง ทำให้ปริมาณน้ำภายในถุงเพิ่มขึ้นและเมื่อเพิ่มมากเกินไปจะเกิดแรงดันทำให้ถุงเซลโลเฟนฉีกขาดได้ ดังนั้นต้องไม่เติมสารละลายผสมจนเต็มถุงเซลโลเฟน ควรเหลือพื้นที่ไว้สำหรับการเพิ่มปริมาตรน้ำภายในถุงและรีดไล่อากาศออกจากพื้นที่ส่วนดังกล่าวก่อนผูกปมปิดถุง (ดังรูปที่ 5 ก.) วิธีการนี้มีประโยชน์มากในทางชีวเคมี เช่น การแยกเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตออกจากโปรตีน การเปลี่ยนบัฟเฟอร์ให้สารละลายโปรตีน การแยกไอออนเล็กหรือโมเลกุลเล็กซึ่งจับกับสารชีวโมเลกุลอย่างหลวมๆ เช่น NAD



รูปที่ 4 การแยกสาร โมเลกุลขนาดใหญ่ และขนาดเล็กออกจากกัน โดยวิธี ไตอะไลซิส

รูปที่ 5 ก. การเติมสารตัวอย่างลงในถุงไตอะไลซิส ข. การกวนสารละลายภายในบีกเกอร์  
ค. ปริมาตรสารละลายในถุงไตอะไลซิสเพิ่มขึ้นจากเดิมซึ่งเป็นผลจากออสโมซิส

วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้ คือ ให้เห็นถึงหลักการแยกสารของวิธีการทั้งสอง โดยใช้ตัวอย่างซึ่งเป็นสารละลายผสมของบลูเดกซ์แทรน (blue dextran) ซึ่งเป็นสารโมเลกุลขนาดใหญ่ น้ำหนักโมเลกุลระดับล้านขึ้นไปและมีสีน้ำเงิน กับโพตัสเซียมไดโครเมต (potassium dichromate :  $K_2Cr_2O_7$ ) ซึ่งเป็นสารโมเลกุลเล็กและมีสีเหลือง ตัวอย่างการทดลองนี้จะไม่พบในการปฏิบัติงานชีวเคมีจริง แต่หลักการเป็นเช่นเดียวกับการแยกโปรตีนขนาดต่างๆ ออกจากกัน การแยกโปรตีนออกจากเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต

## การทดลองที่ 9.1 การแยกสารโดยวิธีเจลฟิวเตรชัน

### สารเคมีที่ใช้

1. เซฟาเดกซ์ จี – 25
2. สารละลายผสมของบลูเดกซ์แทรนและโปตัสเซียมไดโครเมต

### วิธีทดลอง

1. นำเซฟาเดกซ์ จี-25 ที่แช่น้ำจนพองตัวเต็มที่ มาบรรจุลงในคอลัมน์ที่ละน้อยจนได้ความสูงตามต้องการ คือ 10 เซนติเมตร และ 20 เซนติเมตร
2. เติมน้ำกลั่นลงไปนในคอลัมน์เรื่อยๆ อย่างต่อเนื่อง เพื่อวัดอัตราการไหลของคอลัมน์ที่เตรียมได้ โดยจับเวลานับจำนวนหยดที่ได้ต่อเวลา 1 นาที และวัดปริมาตรจำนวน 5 หยดที่เก็บได้จากคอลัมน์ด้วยกระบอกตวงขนาด 10 มิลลิลิตร
3. ปลอ่ยน้ำในคอลัมน์ให้ระดับน้ำลดลงถึงผิวเจล แล้วจึงเติมสารละลายผสมของบลูเดกซ์แทรนและโปตัสเซียมไดโครเมต 5 หยดทันที และนำหลอดทดลองมารองรับน้ำที่ออกมาจากคอลัมน์ตลอดเวลา โดยเก็บหลอดละ 5 หยด
4. ปลอ่ยให้สารละลายผสมซึมลงเข้าไปในเจลจนหมด ล้างหน้าเจลด้วยตัวชะ คือ น้ำกลั่นตามทันทีครั้งละ 1 หยด 6 – 8 ครั้ง โดยหยดต่อเนื่องกันทันทีหลังจากที่หยดก่อนหน้านั้นซึมเข้าไปในเจลแล้ว ฟังระวังอย่าให้ผิวเจลฟุ้งกระจายเวลาหยด
5. เมื่อสารละลายผสมเข้าไปในเจลเรียบร้อยแล้ว เติมตัวชะให้เต็มคอลัมน์ และเติมอยู่สม่ำเสมอจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองเมื่อแถบสีต่างๆ ถูกชะออกมาหมด
6. สังเกตแถบสีที่ปรากฏในคอลัมน์ บันทึกสีของแถบสีในคอลัมน์ ยุติการเก็บน้ำตัวอย่างเมื่อแถบสีทั้งหมดถูกชะออกมาจากคอลัมน์อย่างสมบูรณ์
7. บันทึกสีของน้ำตัวอย่างที่เก็บได้ในหลอดทดลองแต่ละหลอด แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปหลอดละ 3 มิลลิลิตร นำทุกหลอดไปวัดค่าการดูดแสงที่ 370 นาโนเมตรของโปตัสเซียมไดโครเมต และที่ 620 นาโนเมตรของบลูเดกซ์แทรน โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นสารละลายเปล่าในการตั้งเปอร์เซ็นต์แสงส่องผ่านเป็น 100% กรณีที่วัดค่าการดูดแสงที่ความยาวคลื่นใดได้เกิน 1 ให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นเพิ่มเข้าไปอีก แล้วบันทึกปริมาตรน้ำกลั่นที่เติมลงไปทั้งหมดไว้สำหรับการคำนวณหาจำนวนเท่าที่ได้เจือจางไป
8. นำข้อมูลที่ได้มาเขียนกราฟ โดยให้แกน Y เป็นค่าการดูดแสง และแกน X เป็นลำดับของหลอดน้ำตัวอย่างที่เก็บได้

### ตารางบันทึกผลการทดลองที่ 9.1

	ความสูงของคอลัมน์เจล	
	10 เซนติเมตร	20 เซนติเมตร
อัตราการไหล (หยด/นาที) ปริมาตร 5 หยดที่เก็บจากคอลัมน์ คิดเป็นปริมาตร (มิลลิลิตร)		





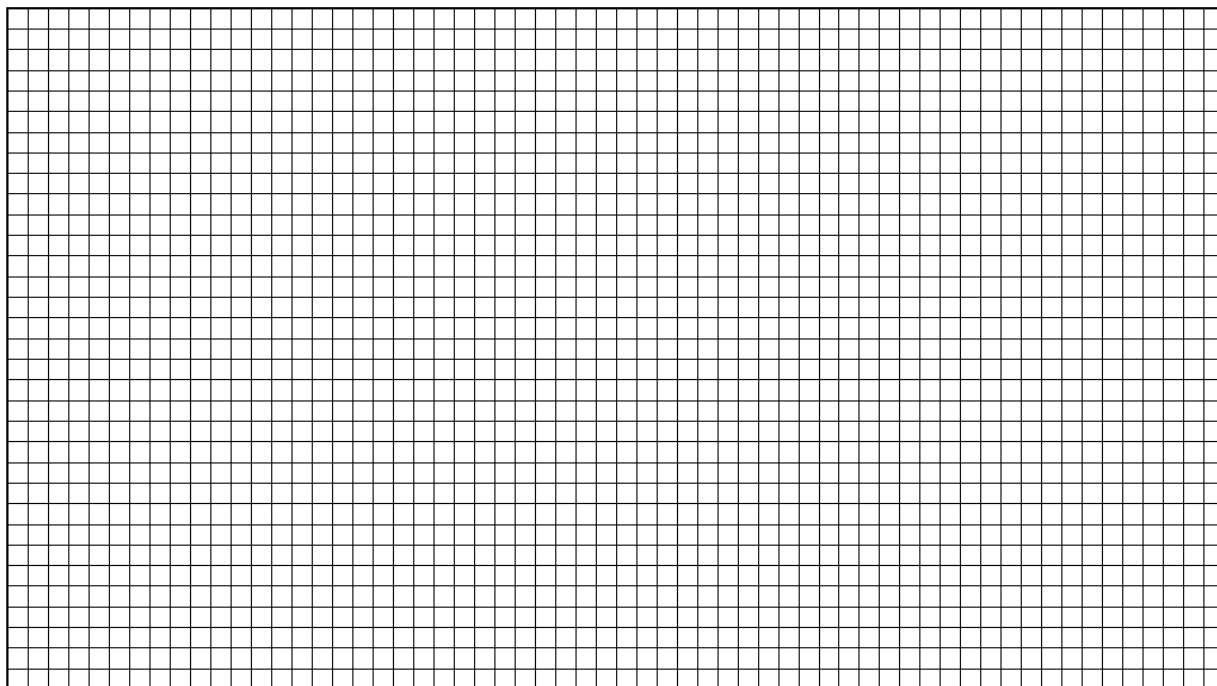




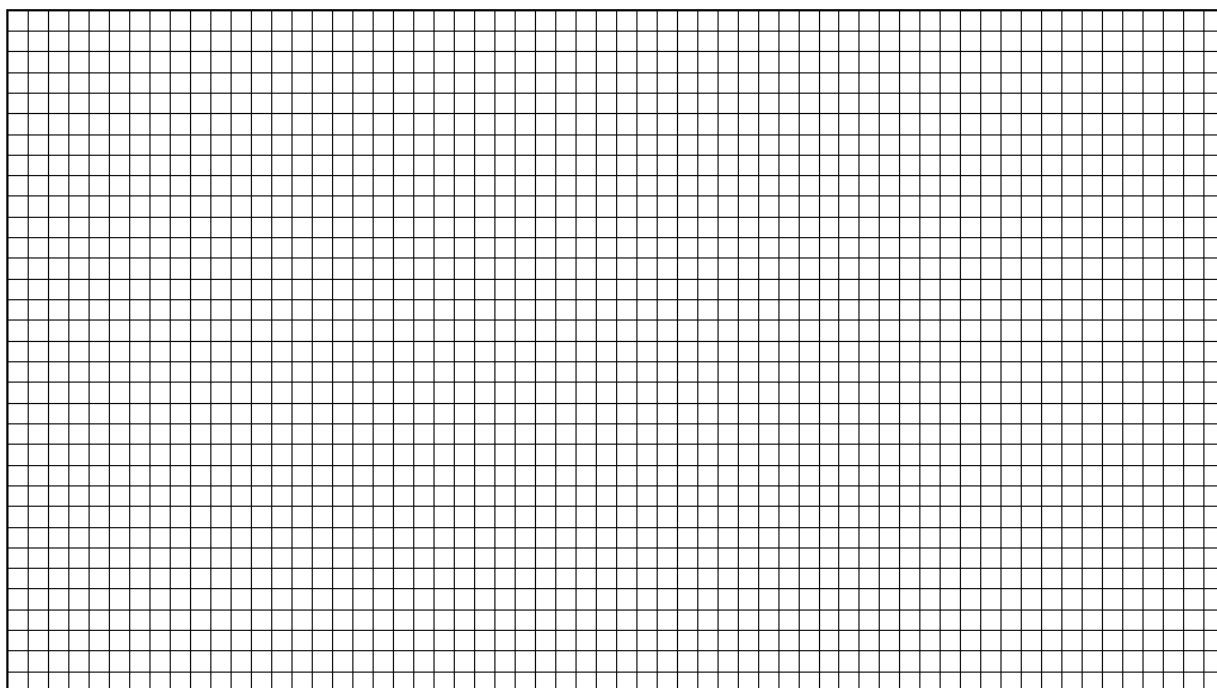








รูปที่ 6 กราฟค่าการดูดแสงที่ 370 และ 620 นาโนเมตร ของลำดับหลอดน้ำตัวอย่างที่เก็บจากคอลัมน์  
เจล เซฟาเด็กซ์ จี-25 ความสูง 10 เซนติเมตร



รูปที่ 7 กราฟค่าการดูดแสงที่ 370 และ 620 นาโนเมตรของลำดับหลอดน้ำตัวอย่างที่เก็บจากคอลัมน์  
เจลเซฟาเด็กซ์ จี-25 ความสูง 20 เซนติเมตร

## สรุปและวิจารณ์ผลการทดลองที่ 9.1

### การทดลองที่ 9.2 การแยกสารโดยวิธีไดอะไลซิส

- สารเคมีที่ใช้
1. ถุงเซลโลเฟน (dialysis tubing)
  2. สารละลายผสมบลูเดกซ์แทรน และ โปตัสเซียมไดโครเมต

#### วิธีทดลอง

1. แช่ท่อเซลโลเฟนยาวประมาณ 2 นิ้ว ให้เปียกเต็มที่
2. ใช้เชือกมัดปลายท่อเซลโลเฟนด้านหนึ่งและขมวดปมตั้งให้แน่น
3. เปิดปากถุงที่อีกปลายหนึ่งและบรรจุสารละลายผสมลงไปประมาณ 3 มิลลิลิตร แล้วใช้เชือกมัดปากถุงให้แน่น ล้างทำความสะอาดคราบต่างๆ ที่อยู่ภายนอกถุงให้เรียบร้อย
4. แช่ถุงเซลโลเฟนในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุน้ำกลั่นไว้ 177 มิลลิลิตร คนน้ำกลั่นด้วยการใช้เครื่อง magnetic stirrer
5. ดูดตัวอย่างน้ำในบีกเกอร์ด้วยปิเปตออกมาเป็นระยะๆ ทุก 3 นาที ครั้งละ 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแล้วเติมน้ำกลั่นอีก 1 มิลลิลิตรให้มีปริมาตรรวม 3 มิลลิลิตร เมื่อเก็บตัวอย่างน้ำในบีกเกอร์ครบ 1 ชั่วโมงแล้ว ให้นำถุงเซลโลเฟนออกมาจากบีกเกอร์
6. ชັมน้ำภายนอกถุงเซลโลเฟนออก ตัดปมแล้วเทเก็บสารละลายที่อยู่ในถุงเซลโลเฟนไว้ในหลอดทดลอง
7. บันทึกสีและวัดค่าการดูดแสงของสารละลายผสมก่อนทำการทดลอง สารละลายที่อยู่ในถุงเซลโลเฟน หลังทำการทดลอง และตัวอย่างน้ำที่เก็บได้จากบีกเกอร์ทุกหลอดที่ 370 นาโนเมตรของโปตัสเซียมไดโครเมตและที่ 620 นาโนเมตรของบลูเดกซ์แทรน โดยใช้น้ำกลั่นเป็นสารละลายเปล่าสำหรับตั้งเปอร์เซ็นต์แสงส่องผ่านเป็น 100% กรณีที่วัดค่าการดูดแสงที่ความยาวคลื่นใดได้เกิน 1 ให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นเพิ่มเข้าไปอีก แล้วบันทึกปริมาตรน้ำกลั่นที่ได้เติมลงไปทั้งหมดไว้สำหรับการคำนวณหาจำนวนเท่าที่ได้เจือจางไป
8. นำข้อมูลค่าการดูดแสงของตัวอย่างน้ำแต่ละหลอดที่เก็บได้ ณ เวลาต่างๆ มาเขียนกราฟ โดยให้แกน X เป็นเวลา และแกน Y เป็นค่าการดูดแสง
9. นำข้อมูลการทดลองมาเปรียบเทียบเพื่อศึกษาชนิดและปริมาณของสารที่อยู่ภายในและภายนอกถุงเซลโลเฟนก่อนทำการทดลองและหลังทำการทดลอง

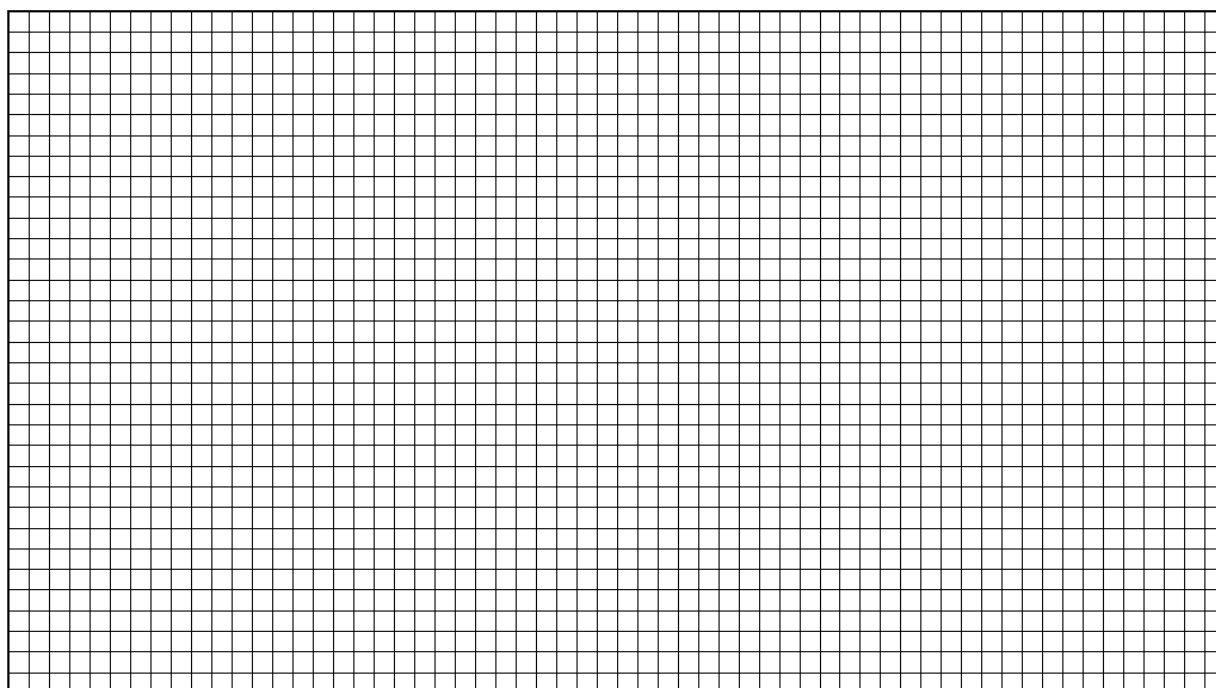


ตารางบันทึกผลการทดลองที่ 9.2-2

	ค่าการดูดแสงที่		สีของสารละลาย
	370 นาโนเมตร	620 นาโนเมตร	
*สารละลายผสมบลูเด็กซ์แทรนและโปตัสเซียมไดโครเมตก่อนทำไดอะไลซิส			
น้ำภายนอกถุงเซลล์โอฟีนก่อนทำไดอะไลซิส			
**สารละลายผสมบลูเด็กซ์แทรนและโปตัสเซียมไดโครเมต ภายในถุงหลังทำไดอะไลซิส			
น้ำภายนอกถุงเซลล์โอฟีนหลังทำไดอะไลซิส			

\* เจือจางด้วยน้ำกลั่น.....มิลลิลิตรก่อนทำการวัดค่าการดูดแสงที่ 370 นาโนเมตร เป็นการเจือจางไป.....เท่า

\*\* เจือจางด้วยน้ำกลั่น.....มิลลิลิตรก่อนทำการวัดค่าการดูดแสงที่.....นาโนเมตร เป็นการเจือจางไป.....เท่า



รูปที่ 8 กราฟค่าการดูดแสงที่ 370 และ 620 นาโนเมตร ของน้ำภายนอกถุงเซลล์โอฟีนที่เก็บ ณ นานาที่ต่าง ๆ

## สรุปและวิจารณ์ผลการทดลองที่ 9.2

### คำถาม

1. จงเปรียบเทียบวิธีการแยกสารแบบเจลฟิลเตรชันและไดอะไลซิส โดยพิจารณาถึงด้านต่างๆ เช่น ความรวดเร็ว การเลือกใช้กับตัวอย่างที่มีปริมาตรมากและน้อย การแยกออกเป็นส่วนย่อยๆ ฯลฯ

2. ในการทดลองที่ 9.2 ถ้าโปตัสเซียมไดโครเมตที่มีอยู่ในถุงเซลโลเฟนมีความเข้มข้น 3 โมลาร์ เมื่อถึงภาวะสมดุลโดยไม่มีการเปลี่ยนน้ำในบีกเกอร์เลย โปตัสเซียมไดโครเมตที่อยู่ในถุงมีความเข้มข้นเป็นเท่าใด

3. ในการแยกโปรตีนที่ผสมกันอยู่ในสารละลาย ซึ่งประกอบด้วยโปรตีน ก, ข, ค และ ง ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเป็น 100,000, 30,000, 35,000 และ 60,000 ตามลำดับ โดยใช้หลักการของเจลฟิลเตรชัน

3.1 ถ้าท่านต้องการแยกโปรตีน ง ออกมาใช้งานแต่เพียงชนิดเดียว ท่านจะเลือกใช้เจลเซฟาเดกซ์ชนิดใด และจงให้เหตุผลต่อการตัดสินใจของท่าน

3.2 เจลเซฟาเดกซ์ที่ท่านเลือกใช้ จะทำให้โปรตีนถูกชะออกมาตามลำดับอย่างไร