

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมน้ำยาบัฟเฟอร์

ตารางภาคผนวก ก-1 การเตรียมสูตรน้ำยาบัฟเฟอร์ทั้ง 4 สูตร ดังนี้

สารเคมี	สูตรน้ำยาบัฟเฟอร์ (g/L)			
	Ca-F HBSS	HBSS	DCSB4	ASW
NaCl	24	24	24	30
KCl	1.2	1.2	-	0.8
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.48	-	0.31	1.3
MgSO ₄ ·7 H ₂ O	0.6	0.6	0.31	6.6
Na ₂ HPO ₄ ·7 H ₂ O	0.36	0.36	-	-
NaHCO ₃	-	-	-	0.18
KH ₂ PO ₄	0.18	0.18	-	-
NaHCO ₃	1.05	1.05	-	-
C ₆ H ₁₂ O ₆	3	3	-	-
Tris-HCl	-	-	2.98	-
pH	7.6	7.6	7.6	8.2
Osmolality (mOsm/kg)	830	830	830	1100

2. การเตรียมสีย้อมสเปิร์ม

2.1 การเตรียม 0.5% Eosin

Eosin 0.25 g.

- ละลายในน้ำกลั่น 50 ml.

- กรองด้วยกระดาษกรอง ขนาด 45 ไมครอน จำนวน 2 ครั้ง

2.2 การเตรียม 10% Nigrosin

Nigrosin 5 g.

- ละลายในน้ำกลั่น 50 ml.

- กรองด้วยกระดาษกรอง ขนาด 45 ไมครอน จำนวน 2 ครั้ง

3. การเตรียมสารไอโซโพรเทกแทนท์ทั้ง 9 ชนิด ดังนี้

3.1 การเตรียมสารละลาย DMSO

- สารละลาย 10% DMSO

ปิเปต DMSO 1 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 20% DMSO

ปิเปต DMSO 2 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 30% DMSO

ปิเปต DMSO 3 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 40% DMSO

ปิเปต DMSO 4 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

3.2 การเตรียมสารละลาย propylene glycol

- สารละลาย 10% propylene glycol

ปิเปต propylene glycol 1 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 20% propylene glycol

ปิเปต propylene glycol 2 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 30% propylene glycol

ปิเปต propylene glycol 3 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 40% propylene glycol

ปิเปต propylene glycol 4 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

3.3 การเตรียมสารละลาย methanol

- สารละลาย 10% methanol

ปิเปต methanol 1 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 20% methanol

ปิเปต methanol 2 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 30% methanol

ปิเปต methanol 3 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 40% methanol

ปิเปต methanol 4 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

3.4 การเตรียมสารละลาย ethanol

- สารละลาย 10% ethanol

ปิเปต ethanol 1 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 20% ethanol

ปิเปต ethanol 2 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 30% ethanol

ปิเปต ethanol 3 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 40% ethanol

ปิเปต ethanol 4 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

3.5 การเตรียมสารละลาย ethylene glycol

- สารละลาย 10% ethylene glycol

ปิเปต ethylene glycol 1 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 20% ethylene glycol

ปิเปต ethylene glycol 2 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 30% ethylene glycol

ปิเปต ethylene glycol 3 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 40% ethylene glycol

ปิเปต ethylene glycol 4 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

3.6 การเตรียมสารละลาย glycerol

- สารละลาย 10% glycerol

ปิเปต glycerol 1 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 20% glycerol

ปิเปต glycerol 2 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 30% glycerol

ปิเปต glycerol 3 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 40% glycerol

ปิเปต glycerol 4 ml. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

3.7 การเตรียมสารละลาย sucrose

- สารละลาย 10% sucrose

ชั่ง sucrose 1 g. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 20% sucrose

ชั่ง sucrose 2 g. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 30% sucrose

ชั่ง sucrose 3 g. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 40% sucrose

ชั่ง sucrose 4 g. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

3.8 การเตรียมสารละลาย trehalose

- สารละลาย 10% trehalose

ชั่ง trehalose 1 g. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 20% trehalose

ชั่ง trehalose 2 g. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 30% trehalose

ชั่ง trehalose 3 g. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 40% trehalose

ชั่ง trehalose 4 g. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

3.9 การเตรียมสารละลาย acetamide

- สารละลาย 10% acetamide

ชั่ง acetamide 1 g. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 20% acetamide

ชั่ง acetamide 2 g. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 30% acetamide

ชั่ง acetamide 3 g. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.

- สารละลาย 40% acetamide

ชั่ง acetamide 4 g. เติมน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ให้ได้ปริมาตร 10 ml.