



เอกสารอ้างอิง

1. บุญส่ง แสงอ่อน, "บทบาทของน้ำคัเครื่อในน้ำอ้อย", วิทยานิพนธ์มหานักเรียน,
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ,2525.
2. ธนาคารกรุงเทพ จำกัด, วารสารเศรษฐกิจธนาคารกรุงเทพ จำกัด, 19(9):542,2530.
3. ธนาคารกสิกรไทยจำกัด, สรุปข่าวเศรษฐกิจธนาคารกสิกรไทยจำกัด, 19-31 เมษายน,
7-17,2530.
4. สันติ ฉ่ายตรากูล, "เด็กซ์แกรนด์ครูลำคัญของการวางแผนการผลิตและคุณภาพน้ำตาลทราย
ว.น้ำตาล พค.-มิย.: 5-9,2525.
5. Chen,C.P.James and M.Chen, Cane Sugar Handbook ,pp.156-158,John
Wiley Interscience ,New York 11th edition,1985.
6. Irvine,J.E., "Fields origins of dextran and other substance affecting
sucrose crystallization", Sug.Y.Azucar.76(7),43-47,1981.
7. Beven,D. and J.Bond, "Microorganisms in fields and mill: A
preliminary survey", Qc.Soc.Sug.Technol.,38,137-143,1971.
8. Alford,A.and C.S.McCluskey, "Some Observation on the bacteria
causing slime in cane juice",Proc.La.Acad.Sci.,636-642,1942.
9. Foxgarty,W.M. and C.J.Kelly, "Topics in Enzyme and Fermentation
Technology 3" (Wiseman,A ed.),pp.67-69, John Wiley and Sons,
New York,1984
10. Novo, Product From Data Information 112e-GB,Novo Enzyme Division
DENMARK,1983.
11. Nordstrom,L and E.Hultin , "Dextranase, a new enzyme from mould",
Svensk.Kem.Tidskr.,60,283-284,1948.
12. Tchuchiya, H.M.,A.Jeanes, H.M.Briker and C.A. Wilham, "Dextran
Degrading Enzymes from Molds", J.Bacteriol.,52,513-519,1952.

13. Suga,K.,G.Deden and M. Moo-Young, "Enzymatic Breakdown of Water Insoluble Substrate", Biotech. and Bioeng., 17, 185-201, 1975.
14. Wheatley,M.A.,and M.Moo-Young, "Degrading of Polysaccharides by Endo- and Exoenzymes :Dextran-Dextranase Model Systems", Biotech.and Bioeng., 19, 219-233, 1977.
15. Simonson,L.G.,B.L. Lamberts, and I.L. Shklair , "A rapid plate method for screening Dextranase Producing Microorganisms", J.Dent.Res., 51(2), 675, 1972.
16. Makinen,K.K., and I.K.Paunio., "Exploitation of Blue Dextran as a Dextranase Substrate " Anal.Biochem., 39, 202-207, 1971.
17. Mencier,F. , "Methode simple et rapide de Mise en evidence ", Ann. Inst.Pastuer, 122, 153-157, 1972 .
18. Okami,Y.,S.Kurasawa, and Y.Hirose. , "A New Glucanase Produced by a Marine Bacillus sp.", Agric.Biol.Chem., 44(5), 1191-1192, 1980.
19. Zevenhuizen,L.P.T.M. , "Cell-bound exodextranase of Bacillus sp.", Carbohyd. Res., 6, 310-318, 1968.
20. Bailey,R.W.and R.T. Clark. , "A Bacterial Dextranase ", Biochem.J. 72, 49-54, 1959.
21. Yamaguchi,T.,and S.Gocho., "Production and Properties of Alkaline Dextranase from a Newly Isolated Brevibacterium sp.", Agric.Biol.Chem., 37, 2527-2533, 1973.
22. Kobayashi,M.,S. Takagi, M.Shiota,Y.Mitsushi and K.Matsuda, "An Isomaltotriose-producing Dextranase from Flavobacterium sp. M-73 Purification and Properties ",Agric.Biol.Chem., 47, 2585-2593, 1983.
23. Staet,R.H. and C.F. Schachtele , "Dextranase from Oral Bacteria", Infect.and Immun., 12(2), 309-317, 1974.

24. Staats, R.H., T.H. Gawronski and C.F. Schachtele, "Detection and Preliminary Studies on Dextranase-Producing Microorganisms from Human Dental Plaque" Infect. and Immun., 8(6), 1009-1016, 1973.
25. Staats, R.H. and C.F. Schachtele, "Evaluation of Dextranase Production by the Cariogenic Bacterium Streptococcus mutans", Infect. and Immun., 9(2) 467-469, 1974.
26. Webb, E. and I. Spencer-Martins, "Extracellular endodextranase from the yeast Lipomyces starkeyi", Can.J.Microbiol., 29, 1092-1095, 1983.
27. Koenig, D.W., and D.F. Day, "Production of Dextranase by Lipomyces starkeyi", Biotech.Lett., 10(2), 117-122, 1988.
28. Tsuru, D., H. Tsuji and J. Fukumoto, "Studies 1 P. luteum Dextranase: Its Production and Some Enzymatic Properties", J.Biochem., 69, 1113-1121, 1971.
29. Godfrey, T. and J. Reichelt, Industrial Enzymology, pp. 423, 478, Macmillan Pub. The Nature Press, U.K., 1983.
30. Fukumoto, J., N. Hiraoka, T. Hirose and D. Tsuru, "Studies 2 Dextranase Production by a strain of A. carneus", Agric.Biol.Chem., 35 (11), 1727-1732, 1971.
31. Hiraoka, N., J. Fukumoto and D. Tsuru, "Studies(3) Purification and Some Enzymatic Properties of A. carneus", J.Biochem., 71, 57-64, 1972.
32. Joshi, V.K. and D.V. Tamhane, "Location of Dextranase activity in an Aspergillus luchuensis isolate", Curr.Sci., 42(20), 720-721, 1973.
33. Joshi, V.K. and D.V. Tamhane, "Fermentative Production of Dextranase by Aspergillus luchuensis", Ind.J.of Exper.Biol., 13, 55-57, 1975.
34. Simonson, L.G., and A.E. Liberta "New Sources of Fungal Dextranase", Mycologia, 67, 845-851, 1975.

35. Simonson,L.G.,A.E.Liberta and A.Richardson, "Characterization of an extracellular Dextranase from Fusarium moniliforme", App.Microbiol.,30(5),855-861,1975.
36. Hattori,A. and K.Ishibashi, "Screening of Dextranase Producing Microorganisms", Agric.Biol.Chem.,45(10),2347-2349,1981.
37. Hattori,A.,K.Ishibashi, and S.Minati, "The Purification and Characterization of the Dextranase of Chaetomium gracile", Agric.Biol.Chem.,45(11),2409-2416,1981.
38. Sugiura,M.,A.Ito,T.Ogiso,K.Kato and H.Asano, "Studies(2) Purification of Dextranase from Penicillium funiculosum and its enzymatic properties", Biochem and Biophys Acta., 309,357-362,1973.
39. Lee,J.M.,and P.F.Fox , "Purification and Characterization of Paecilomyces lilacinus dextranase", Enz.Micro.Tech., 7,573-577,1985.
40. Madhu and K.A.Prabhu," Studies on dextranase from Penicillium aculeatum", Enz.Micro.Tech.,6,217-220,1984.
41. Madhu and K.A. Prabhu, "Immobilization of Dextranase on Bentonite" Enz.Micro.Tech., 7,279-282,1985.
42. Charles,A.F.,and L.N. Farrell "Preparation and use of enzymatic material from Penicillium lilacinum to yield clinical dextran" Can.J.Microbiol.,3,239-247,1957.
43. Kosaric,N.,K.Yu, and J.E.Zajic, "Dextranase Production from P.funiculosum", Biotech.and Bioeng.,15,729-741,1973.
44. Chaiet,L.A.,J.Kempf,R.Harman,E.Kaczka,R.Weston,K.Nolstadt, and F.J.Wolf,"Isolation of a Dextranase from P. funiculosum." Appl.Microbiol., 20,421-426,1970.
45. Imrie,F.K.E. and R.H.Tilbury, "Polysaccharides in sugar cane and its products", Sugar Tech.Rev., 1,291-361,1972.

46. Tilbury,R.H. and S.M. French, "Further studies on enzymatic hydrolysis of dextran in mills juices by dextranase and fungal α -amylase", Proc. 15th ISSCT, 1277-1286, 1974.
47. Tilbury,R.H. "Dextrans and Dextranase", Proc. 14th ISSCT, 1444-1458, 1971.
48. Inkerman,P.A., "An Appraisal of the use of Dextranase", Proc. 17th ISSCT, 2411-2427, 1980.
49. Jolly,S.C. and C.Prakash, "Removal of dextran from cane juice", Int.Sugar J., 89(1066), 184-186, 1987.
50. กาญจนฯ ชาญล่างเวช, "วิธีวินิจฉัยชนิดและนับปริมาณแพลงค์ตอนพิช", วารสารวิทยาศาสตร์, 35, 588-589, 2524.
51. Somogyi,M., "Notes on sugar Determination", J.Biol.Chem., 195, 19-23, 1952.
52. Nelson,N., "A Photometric adaptation of the Somogyi Method for determination of glucose", J.Biol.Chem., 153, 375-380, 1944.
53. Lowry,O.H.,N.J.Rosenbrough,A.L.Farr, and R.J.Randall "Protein measurement with the Folin phenol reagent", J.Biol.Chem., 193, 265-275, 1951.
54. Madhu,G.,L.Shukla, and K.A.Prabhu, "Application of dextranase in the removal of dextran from cane juice", Int.Sugar J., 86 (1025), 136-138, 1984.
55. Trevelyan,W.E.,D.P.Procter, and J.S. Harrison, "Detection of sugars on paper chromatograms", Nature, 166, 444-445, 1950.
56. Sugiura,M. and A.Ito, "Studies 3 Action Pattern of Dextranase from Penicillium funiculosum on Substrate and Inhibition on Hydrolysis Reaction by Substrate Analogues", Chem.Pharm.Bull., 22(7), 1593-1599, 1974.
57. Sugiura,M. and A.Ito, "Studies 4 Immobilization of Dextran from P. funiculosum IAM 7013", Chem.Pharm.Bull., 22(12), 2941-2946, 1974.

58. Sugiura, M., A., Ito, T., Ogiso, and K. Kato, "Studies 5 Activation of Dextranase from P. funiculosum by Co^{++} ", Chem. Pharm. Bull.., 22(12), 2953-2958, 1974.
59. Brown, R.G., "Stimulation of Dextranase production by oxidized Dextran", Can.J.Microbiol., 16, 841-844, 1970.

ศูนย์วิทยบรหพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ

1.อาหารเลี้ยงเชื้อมันฝรั่ง (Potato Dextrose Agar)สำหรับแยกเชื้อจากตัวอย่างดิน
ประกอบด้วย

| | | |
|-----------------|-----|-----------|
| มันฝรั่งหั่น | 200 | กรัม |
| เคกซ์ไครล | 20 | " |
| วุ้นแดง | 15 | " |
| Chloramphenical | 250 | มิลลิกรัม |

เตรียมโดยการนำมันฝรั่งมาปอกเปลือกแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ชั้งน้ำหนักให้ได้ 200กรัม ต้มในน้ำเดือด 10นาที กรองล้วนน้ำมาเติมส่วนผสมอื่นๆ ตามที่กำหนด 1 ลิตรนั่งชั่วโมง ข่า เชื้อที่สภาวะมาตรฐาน 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2. สูตรอาหารสำหรับเพลิดเพลินแกะเนสตามวิธีของ Simonson (34)

| | |
|--|---------------|
| Dextran | 1.5% |
| NaCl | 0.3% |
| MgSO ₄ .7H ₂ O | 0.02% |
| NH ₄ H ₂ PO ₄ | 0.1% |
| K ₂ HPO ₄ | 0.1% |
| KI | 100 ไมโครกรัม |
| FeSO ₄ | 50 " |

Ammonium Molybdate ,Manganese Sulfate ,Inositol

อย่างละ 10 ไมโครกรัม

Thiamine ,Riboflavin ,Pyridoxine Nicotinic acid ,para-Aminobenzoic acid ,Calcium pantothenate อย่างละ 200 ไมโครกรัม
Biotin 2 ไมโครกรัม

เติมน้ำให้ครบ 1 ลิตร แล้วนึ่งข่า เชื้อ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

3. สูตรอาหารสำหรับผลิตเกล็ดแทรนเนสตามวิธีของ Hattori (36)

| | |
|---|-----------------------------------|
| Dextran | 1.0% |
| Corn Steep Liquor | 1.0% |
| Defatted cotton seed meal | 1.0% (ใช้หากั่วเหลืองย่อยแล้วแทน) |
| KH_2PO_4 | 0.5% |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0.25% |

ปรับความเป็นกรดค้างให้เป็น 6.0 นิ่งช่าเชือกสีขาวมาตรฐาน

4. สูตรอาหารสำหรับผลิตเกล็ดแทรนเนสตามวิธีของ Fukumoto (30)

| | |
|---|--------|
| Dextran | 1.0% |
| NaNO_3 | 0.2% |
| K_2HPO_4 | 0.2% |
| KCl | 0.05% |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0.05% |
| FeSO_4 | 0.001% |
| Yeast Extract | 0.2% |

ปรับความเป็นกรดค้างเป็น 6.0 นิ่งช่าเชือกสีขาวมาตรฐาน

5. สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ Leuconostoc mesenteroides (30)

| | |
|--------------------------|------|
| Sucrose | 2.0% |
| Yeast Extract | 0.5% |
| K_2HPO_4 | 0.5% |
| Tryptone | 0.2% |

นิ่งช่าเชือกสีขาวมาตรฐาน สำหรับน้ำตาลให้แยกช่าเชือโดยการนิ่งช่าเชือโดยใช้ autoclave ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 10 นาที

ภาคผนวก ช

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง



1. ริเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวช์

1.1 อัลคาไลน์ คอปเปอร์ ริเอเจนต์ (Alkaline Copper Reagent)

ละลายน้ำเดียวโดยการเจนฟ้อสเฟต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 71 กรัม และโรเชลล์ (Rochelle Salt) 40 กรัมในน้ำ 700 มล. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 N 100 มล. แล้วเติมสารละลายคอปเปอร์ชัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 10% 80 มล. ผสมให้เข้ากันแล้วปรับปริมาตรสุกท้ายให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บใส่ขวดสีน้ำตาล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง ถ้ามีตกอนกรอง ก่อนนำไปใช้

1.2 เนลลัน ริเอเจนต์ (Nelson Reagent)

ละลายน้ำเดียวโดยการเจนฟอร์มิโนบิค็อก ($(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_7 \cdot \text{O}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 53.2 กรัมในน้ำกลั่น 900 มล. แล้วเติมกรดชัลฟอร์คิเจ้มข้น 21 มล. ผสมให้เข้ากัน เติมสารละลายโซเดียมอาซีเนท ($\text{NaHAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 12% 50 มล. ปรับปริมาตรสุกท้ายให้เป็น 1 ลิตร เก็บใส่ขวดสีน้ำตาล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง ถ้ามีตกอนกรองออกก่อนนำไปใช้

2. ริเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Lowry's Method)

2.1) สารละลายน้ำ Lowry A ประกอบด้วย

| | |
|---|---------------|
| โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) | 60 กรัม |
| โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) | 12 " |
| โซเดียมโพตัสเซียมทาร์เตรต (NaK.Tartrate) | 0.6 " |
| น้ำกลั่น | 300 มิลลิลิตร |

2.2) สารละลายน้ำ Lowry B ประกอบด้วย

| | |
|------------------------------------|----------------|
| คอปเปอร์ชัลเฟต (CuSO_4) | 50 กรัม |
| น้ำกลั่น | 1000 มิลลิลิตร |

2.3) สารละลายน้ำ Lowry C ประกอบด้วย

| | |
|-------------|---------|
| ผสม Lowry A | 50 ส่วน |
| ผสม Lowry B | 1 " |

2.4)สารละลาย Lowry D (Phenol Reagent) ประกอบด้วย

สารละลายฟีโนล ฟิล์อเจนต์ (Folin phenol Reagent)

1 ส่วน เค็มน้ำกลัน 1 ส่วน

3. สารละลายที่ใช้ทำให้เกิดสีในโคมไฟการพิกระดับของน้ำตาล

ละลาย ชิลเวอร์ไนเตรท (AgNO_3) 0.1 มิลลาร์ ในปริมาณที่เท่ากับสารละลาย
แอมโมเนียมไออกโซไไซด์ 5 มิลลาร์

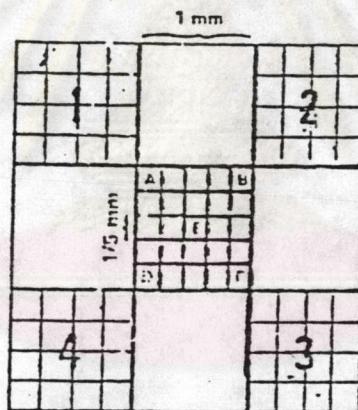
การทำให้เกิดสีโดย สเปรย์สารละลาย ชิลเวอร์ไนเตรท แล้วอบแห้งที่ 80 องศา
เซลเซียลนาน 5-10 นาที

ศูนย์วิทยทรัพยากร
มหาลัยครุศาสตร์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

การนับสปอร์โดยใช้ Haemacytometer

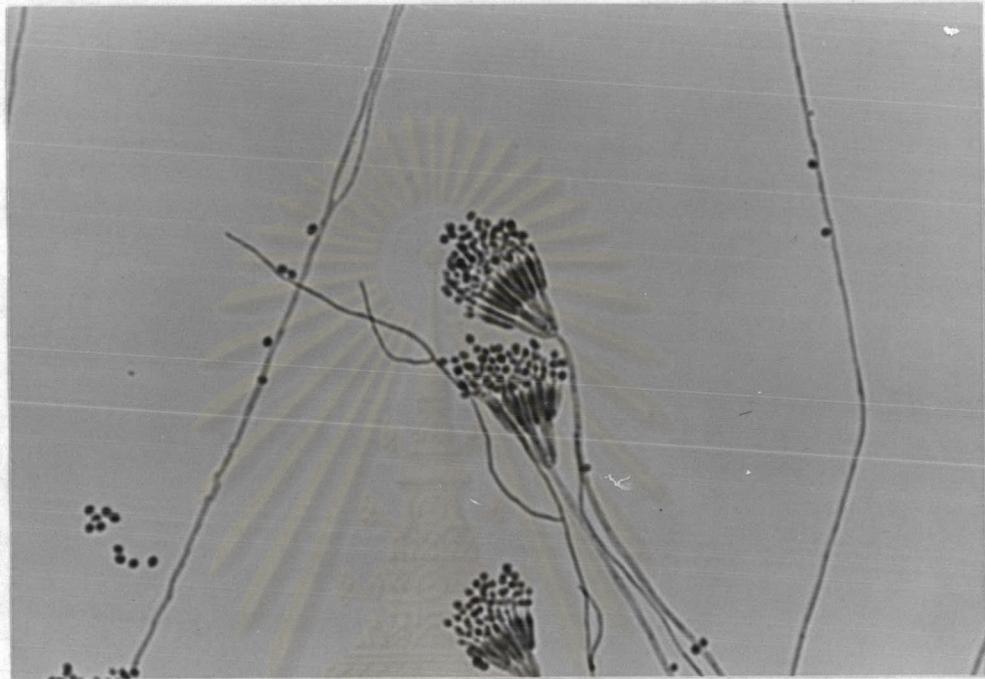
หาปริมาณจำนวนสปอร์โดยนับสปอร์ในช่องใหญ่ 5 ช่อง โดยในแต่ละช่องใหญ่นั้นนับ 8 ช่อง คั่งแลดงในรูปข้างล่าง(50)

$$\text{จำนวนสปอร์} = \frac{1}{4} \text{ จำนวนสปอร์เฉลี่ย ในช่องเล็ก} \times 10^6 \text{ สปอร์/มล.}$$


Depth of Chamber = 0.1 mm



ภาคผนวก ง



รูปที่ 26 แสลงลักษณะของสายใยและสปอร์ของเชื้อ Penicillium sp. สายพันธุ์ 61
ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA นาน 4 วัน

ประวัติผู้เขียน

นายเอก แสงวิเชียร เกิดเมื่อวันที่ 31 มกราคม 2508 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ได้รับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา จากคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ในปีการศึกษา 2528



ศูนย์วิทยาธารพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย