# เอกสารอ้างอิง


กองโภชนาการ. 2533. ตารางแสดงชนิดและปริมาณกรดอะมิโนในอาหารไทย กรุงเทพมหานคร. กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข.

สถาบันวิจัยข้าว, สำนักงาน. 2534. สถิติผลผลิตข้าวรวมและฟางข้าวของประเทศไทยปีต่าง ๆ. กรุงเทพมหานคร.สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (อัดสำเนา)

ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. 2534. เครื่องมือวิทยาศาสตร์. ขอนแก่น : ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

นฤมล เรืองฤทธินนท์. 2526.เอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลสของ *Aspergillus fumigatus Fresenius* (v1) ที่แยกได้จากกองขยะ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นุ่มนวล อุดมพงษานนท์. 2527. ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์. ใน ชีวเคมีขั้นพื้นฐาน. หน้า 43-49 ขอนแก่น: ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2532. ความจำเพาะของเอนไซม์. ใน เอนไซม์ทางอาหาร ตอนที่ 1. หน้า 4-5 กรุงเทพมหานคร. : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

_____. 2533. เซลลูเลสตริงรูป. ใน เอนไซม์ทางอาหาร ตอนที่ 2. หน้า 213-225 กรุงเทพมหานคร. : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เมทินี สุคนธรักษ์. 2513. โปรตีนจากจุลินทรีย์. วารสารวิทยาศาสตร์การอาหาร. 3:15-24

รุ่งอรุณ วัฒนวงศ์ และ สมชาติ รุ่งอินทร์. 2523. การศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติของฟางข้าวนาปีและฟางข้าวนาปรังในการทำเยื่อกระดาษ. กรุงเทพมหานคร. งานเยื่อและกระดาษ กองการวิจัย กรมวิทยาศาสตร์บริการ.

ลักขณา มีน่วม และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2529. คู่มือปฏิบัติการการวิเคราะห์อาหาร. เชียงใหม่ : ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วรรณดี สุประดิษฐ์อาภรณ์, 2532. การผลิตปุ๋ยหมักจากฟางข้าวและน้ำกากส่าโดย *Aspergillus* sp. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิศิษฐ์พร เผื่อนพิภพ. 2529. การคัดเลือกเชื้อราเพื่อใช้ในการทำปุ๋ยหมักจากฟางข้าว วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุจิมา รักษาศีล. 2533. ผลของสารประกอบดีบุกต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สุมาลี เหลืองสกุล. 2527. การผลิตโปรตีนเซลล์เดียว. ใน จุลชีววิทยาทางอาหาร. หน้า 368-370 กรุงเทพมหานคร.ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.

อรพิน ภูมิภมร. 2527. โปรตีนเซลล์เดียวกับโภชนาการ.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 11: 23-34

Baker, T.L., Guike, G.U., Bentley, O.Q. Johnson, R.R. and Monon, A.L. 1959. The influence of certain physical properties of purified celluloses and forage celluloses on their digestibility by rumen microorganisms in vitro. J. Anim. Sci. 18 (2): 655-662

Cowling, E.B. 1975. Physical and chemical constrains in the hydrolysis of cellulose and lignocellulosic materials. Biotech. Bioeng. Symp. No. 6, pp. 163-181 Sydney : John Wiley & son, Inc.

Clowson, W.J., Garrett, W.N., and Richard, S. 1970. Rice straw utilisation by liverstock. California Agricultural Extension Service Publication MA-1.

Davidson, E.A. 1967. Polysaccharide. In Carbohydrate chemistry, pp. 347-348 New York : Holt, Rinchart and Winston.

Dayi, J.A. and Iyenger, T.R. 1971. in Hand-book of Manures and Fertilizer. pp. 68-122. New Delhi. Indian coun. Agri. Res.

Gray, K.R., Sherman, K. and Biddlestone, A.J. 1971. A. Review of compositing-Part 1. Process Biochem. 6(6), 1971: 32-36

Goodwin, T.W., and Mercer, E.I.1983. The plant cell wall. In Introduction to plant biochemistry., London: Academic Press.

Greulch, V.A. 1973. Plant function and structure. pp 48-54 New York : MC. Millian

Han, Y.W., and Srinivasan, V.R. 1968. Isolation and characterization of cellulose utilizing bacterium. Appl. microbiol. 16:1140-1145.

_____. 1969. Purification and characterization of ß-glucosidase of *Alcaligenes faecalis*. J. bacteriol. 100:1355-1369

Han, Y.W., Dunlap, C.E., and Callihan, C.L. 1971. Single cell protein from cellulosic waste. Food Technol. 25(2):32-36

Han, Y.W. and Anderson, A.W. 1974. The problem of rice straw waste. A possible feed through fermentation. Econ. Bot. 28(3) : 333-334

Han, Y.W., and Callihan, C.D. 1974. Cellulose fermentation: Effect of substrate pretreatment on microbial growth. Appl. microbiol. 27(1):159-165

Hopwood, D.A., Bibb, M.J., Chater, K.F., and Kieser, T. 1985. Genetic manipulation of Streptomyces a laboratory manual. pp. 5 Norwich: The john Innes Foundtion.

Lee, S.B., Kim, I.H., Ryu, D.D.Y., and Taguchi, H. 1953. Structure properties of cellulose reaction mechanism. Biotech. Bioeng. 25:35-51

Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.L.1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275

Mandels, M., and Reese, E.T. 1957.Induction of cellulase in *Trichoderma viride* as influenced by carbon source and metal. J. bacteriol. 73: 269-278.

Mandels, M., and Weber, J. 1969. The production of cellulases. In Gould, R.F. (Ed.), Cellulases and their Application, pp. 351-414 Washington, D.C.: American Chemical Society.

Mandels, M. 1975. Microbial source of cellulase. Biotech. Bioeng. Symp. No. 5, pp. 81-105. Sydney.: John Wiley & son ,Inc.

Mandels, M., and Andreotti, R. and Roche, C. 1976. Measurement of saccharifying cellulase. pp.21-23 Sydney.:Biotech. Bioeng. Symp. No.6

Mandels, M., and Sternberg, D. 1976. Re centadvances in cellulase technology. J. ferment. Technol. 54(4): 267-286

Miller, G.L. 1959. Use of Dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31(3): 426-428

Nisizawa, T., Suzuki, H., Nakayama, M., and Nisizawa, K. 1971. Inductive formation of cellulose by sophorose in *Trichoderma viride*. J. Biochem. 70: 375-385

Nisizawa, K. 1973. Mode of the action of cellulases. J. ferment. Technol. 51(4):267-304.

Osothsin, C. 1981. Cellulase production by *Trichoderma viride* from water hyacinth. Master's Thesis, Mahidol University.

Peiterson, N. 1975a. Production of cellulase and protein from barley straw. Biotech. Bioeng. 17:361-374.

_____. 1975b. Cellulase and proteinproduction from mixed culture of *Trichoderma viride* and a yeast. Biotech. Bioeng. 17: 1291-1295.

Rockwell, P.J. 1976. Source and characteristic of cellulose. In. Rockwell, P.J.(Ed.), Single cell proteins from cellulose and hydrocarbons,, pp. 4-16 New Jersey: Noyes. data corporation

Ryu, D.D, and Mandels, M. 1980. Cellulase: Biosynthesis and applications Enzyme Microbiol. Technol. 2: 91-102

Selby, K., and Maitland, C.C. 1967. The cellulases of *Trichoderma viride* : separation of the component involved in the solubilition of cotton. Biochem. J. 104: 716-724

Sternberg, D. 1976. β-glucosidase of *Trichoderma viride*:Its biosynthesis and role saccharification of cellulose. Appl. Env. Microbiol. 31:648-654

Tanaka, M., Taniguchi, M., Morinaga, T., Matouno, R., and Kamikubo, T. 1980. Cellulase productivity of *Eupenicillium javanicum*. J. Ferment. Technol. 58(2): 149-154

Tannenbaum, S.R., Mateles, R.I., and Capco, G.R. 1966. Processing of bacteria for production concentrate. Adv. Chem. Ser. 57: 92-123

Tong, C.C., Cole, A.L., and shephord, M.G. 1980. Purification and properties of cellulase from thermophilic bacteria *Thermoascus aurentiacus*. Biochem. J. 191:83-94

Vananuvat, P., and Kinsella, J.E. 1975. Extraction of protein, Low in nucleic acid from *Saccharomyces fragilis* grown continuously on crude lactose. J. Agr. Food Chem. 23(2) : 216-221.

Whitaker, J.R. 1972. The glycoside hydrolyses. In Owen, F.R. (Ed.), Principles of enzymology for the food sciences. pp.457-459. New York : Marcel Dokker

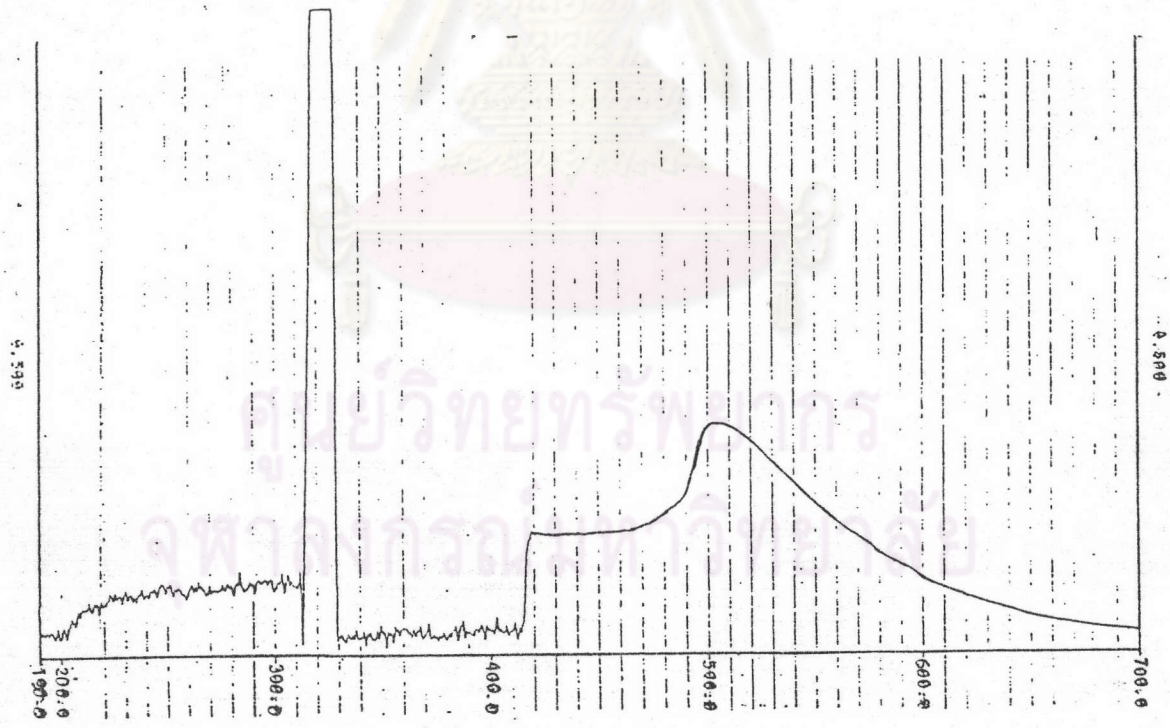
World Health Organization. 1973. Technical Report Series 552 Energy and Protein Requirement Report of joint FAO/WHO ad Hoc Expert Committe. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก.

ก-1 กราฟมาตรฐานของ D-glucose สำหรับวัดแอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสโดยวิธี DNSA (Miller, 1959)

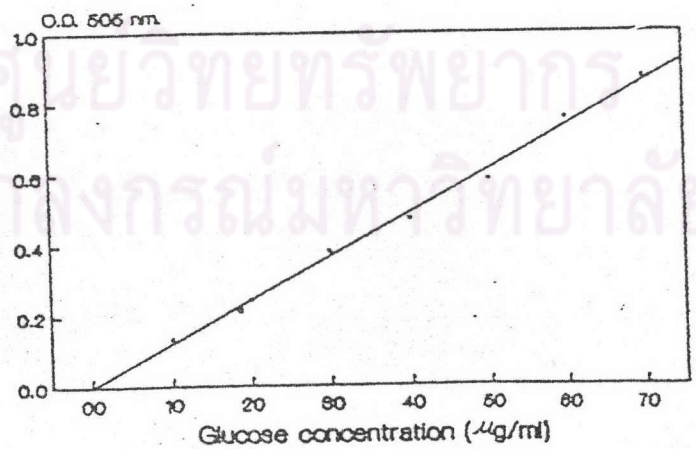
เตรียมสารละลาย D-glucose ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 และ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายนี้ความเข้มข้นละ 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองการทดสอบน้ำตาลรีดิวส์เติมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก ลงในหลอดทดลองที่บรรจุสารละลาย D-glucose หลอดละ 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแช่ในน้ำเดือด 15 นาที ทำให้เย็นเติมน้ำยาจัดไอออน 6 มิลลิลิตรวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆเพื่อหาความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (505 นาโนเมตร)




รูปที่ ก-1.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆของสารละลาย D-glucose โดยวิธี DNSA (Miller, 1959)

**ตารางที่ ก-1** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 505 นาโนเมตรของสารละลาย D-glucose ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยวิธี DNSA (Miller, 1959)

| ความเข้มข้นของD-glucose (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 505 นาโนเมตร |
|---|---|
| 10 | 0.132 |
| 20 | 0.242 |
| 30 | 0.380 |
| 40 | 0.471 |
| 50 | 0.580 |
| 60 | 0.754 |
| 70 | 0.870 |
| 80 | 1.080 |




**รูปที่ ก-1.2** กราฟมาตรฐานของสารละลาย D-glucose ความเข้มข้นต่าง ๆ (505 นาโนเมตร) โดยวิธี DNSA (Miller, 1959)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก-2 กราฟมาตรฐานของ D-glucose สำหรับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNSA (Miller, 1959)

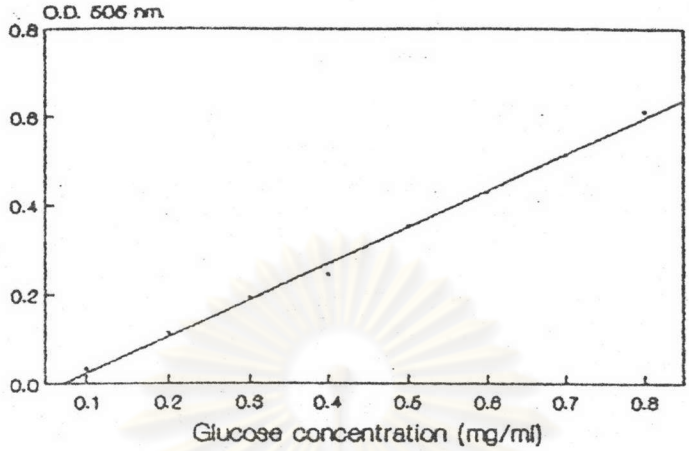
เตรียมสารละลาย D-glucose ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายนี้ความเข้มข้นละ 1 มิลลิลิตรใส่หลอดทดลองการทดสอบน้ำตาลรีดิวส์เติมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก ลงในหลอดทดลองที่บรรจุสารละลาย D-glucose หลอดละ 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแช่ในน้ำเดือด 15 นาที ทำให้เย็นเติมน้ำขจัดไอออน 6 มิลลิลิตรวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆเพื่อหาความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (505 นาโนเมตร)

**ตารางที่ ก-1** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 505 นาโนเมตรของสารละลาย D-glucose ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยวิธี DNSA (Miller, 1959)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

| ความเข้มข้นของD-glucose (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 505 นาโนเมตร |
|---|---|
| 0.1 | 0.036 |
| 0.2 | 0.105 |
| 0.3 | 0.169 |
| 0.4 | 0.199 |
| 0.5 | 0.238 |
| 0.6 | 0.284 |
| 0.7 | 0.304 |
| 0.8 | 0.371 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




รูปที่ ก-1.2 กราฟมาตรฐานของสารละลาย D-glucose ความเข้มข้นต่างๆ (505 นาโนเมตร) โดยวิธี DNSA (Miller, 1959)

ก-3 <u>กราฟมาตรฐานของ bovine serum albumin (BSA) สำหรับวัดปริมาณโปรตีนโดยดัดแปลงวิธีการของ Lowry</u> (Lowry, และคณะ 1951)

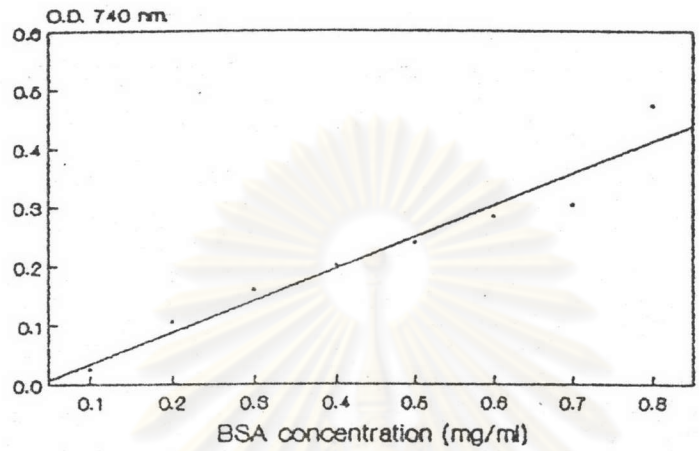
เตรียมสารละลาย BSA ความเข้มข้น 0.1-0.9 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายนี้ความเข้มข้นละ 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองเติมสารละลายอัลคาไลน์คอปเปอร์(วิธีเตรียมตามภาคผนวก ข-2.2.1) จำนวน 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องไม่ต่ำกว่า 10 นาที เติมสารละลายฟีนอล (วิธีเตรียมตามภาคผนวก ข-2.2.1) จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องไม่ต่ำกว่า 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ เพื่อหาความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (740 นาโนเมตร)

รูปที่ ก-3.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆของสารละลายมาตรฐาน BSA ตามวิธีการวิเคราะห์ของ Lowry และคณะ (1951)

ตารางที่ ก-3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 740 นาโนเมตร ของสารละลาย BSA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ตามวิธีการวิเคราะห์ของ Lowry และคณะ (1951)

| ความเข้มข้นของ BSA (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 740 นาโนเมตร |
|---|---|
| 0.1 | 0.063 |
| 0.2 | 0.105 |
| 0.3 | 0.169 |
| 0.4 | 0.199 |
| 0.5 | 0.238 |
| 0.6 | 0.284 |
| 0.7 | 0.304 |
| 0.8 | 0.371 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




รูปที่ ก-3.2 กราฟมาตรฐานของสารละลาย BSA ความเข้มข้นต่าง ๆ (740 นาโนเมตร) ตาม วิธีการวิเคราะห์ของ Lowry และคณะ (1951)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ข.

### ข-1 สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ข-1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar

ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| มันฝรั่งหั่น | 200 | กรัม |
| กลูโคส | 20 | กรัม |
| วุ้นผง | 20 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1 | ลิตร |

วิธีเตรียม

นำมันฝรั่งมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ชั่งน้ำหนักให้ได้ 200 กรัมต้มในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตรให้เดือดนาน 10 นาที กรองส่วนน้ำมาผสมสารอื่นข้างต้นเติมน้ำให้ครบ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที ความดันไอ 15 psi

ข-1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud Dextrose Agar

ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| เปปโตน | 10 | กรัม |
| Dextrose | 10 | กรัม |
| วุ้นผง | 15 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1 | ลิตร |

ข-1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar

ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| Beef extract | 3 | กรัม |
| เปปโตน | 5 | กรัม |
| กลูโคส | 8 | กรัม |
| วุ้นผง | 15 | กรัม |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข-1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ตามสูตรของ Han และ Callihan (1974)

ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| $(NH_4)_2SO_4$ | 6 | กรัม |
| $KH_2PO_4$ | 1 | กรัม |
| $K_2HPO_4$ | 1 | กรัม |
| $MgSO_4.7H_2O$ | 0.1 | กรัม |
| $CaCl_2$ | 0.1 | กรัม |
| $FeCl_3.6H_2O$ | 16.7 | มิลลิกรัม |
| $ZnSO_4.7H_2O$ | 0.18 | มิลลิกรัม |
| $CuSO_4.5H_2O$ | 0.16 | มิลลิกรัม |
| $CoCl_2.6H_2O$ | 0.18 | มิลลิกรัม |
| EDTA | 20.1 | มิลลิกรัม |
| yeast extract | 0.05 | % |
| น้ำกลั่น | 1.0 | ลิตร |

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมให้เข้ากันใช้ฟางข้าวที่ผ่านการเตรียมขั้นต้น 1.0 เปอร์เซนต์ เป็นแหล่งคาร์บอน ปรับพีเอช เป็น 6.6 ด้วยกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที ความดันไอ 15 psi

ข-1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Czapek's dox media ตามสูตรของ Mandels และ Weber (1969) สำหรับเตรียมเอนไซม์เซลลูเลส

ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| $(NH_4)_2SO_4$ | 1.4 | กรัม |
| $KH_2PO_4$ | 1 | กรัม |
| ยูเรีย | 0.3 | กรัม |
| $CaCl_2$ | 0.1 | กรัม |

| | | |
|---|---|---|
| $MgSO_4.7H_2O$ | 0.1 | กรัม |
| $FeSO_4.7H_2O$ | 5.0 | มิลลิกรัม |
| $MnSO_4.H_2O$ | 1.6 | กรัม |
| $ZnSO_4.7H_2O$ | 1.4 | มิลลิกรัม |
| $CoCl_2.6H_2O$ | 0.18 | มิลลิกรัม |
| โพลีเปปโตน | 1.0 | กรัม |
| ทวีน-80 | 0.2 | % |
| น้ำกลั่น | 1.0 | ลิตร |

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมให้เข้ากันใช้ฟางข้าวที่ผ่านการเตรียมขั้นต้น 1.0 เปอร์เซนต์ เป็นแหล่งคาร์บอน ปรับพีเอชเป็น 5.3 ด้วยกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที ความดันไอ 15 psi

ข-1.6 น้ำเปปโตน

ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| เปปโตน | 1 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1.0 | ลิตร |

ข-1.7 น้ำเกลือ (normal saline)

ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| NaCl | 0.9 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1.0 | ลิตร |

ข-2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ข-2.1 สารเคมีที่ใช้ทดสอบน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (DNSA)

ข-2.1.1 สารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (DNSA)

ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| กรดไดไนโตรซาลิไซลิก (DNSA) | 10 | กรัม |
| ฟีนอล | 2 | กรัม |
| โซเดียมซัลไฟต์ | 0.5 | กรัม |
| โซเดียมไฮดรอกไซด์ | 10 | กรัม |
| โปแตสเซี่ยมโซเดียมตาร์เตรต | 200 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1.0 | ลิตร |

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมให้เข้ากันจากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

ข-2.2 สารเคมีที่ใช้สำหรับวัดปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry

ข-2.2.1 สารละลายอัลคาไลน์คอปเปอร์

ประกอบด้วย

ก. สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตในด่างโดยใช้โซเดียมไบคาร์บอเนต 2 กรัมต่อโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร

ข. สารละลาย copper sulphate-sodium potassium tartrate (0.5 % $CuSO_4$ ใน 1 % $NaKC_4H_4O_6$) เตรียมใหม่ทุกครั้ง

ค. สารละลายอัลคาไลน์ นำสารละลายจากข้อ ก. จำนวน 50 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายข้อ ข. จำนวน 1 มิลลิลิตร เตรียมใหม่ทุกครั้ง

ข-2.2.2 สารละลายฟีนอล

ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| Folin-ciacalteas | 1 | ส่วน |
| น้ำขจัดไอออน | 1 | ส่วน |

ข-2.3 สารเคมีที่ใช้ในการหาปริมาณโปรตีน Kjeldahl

ข-2.3.1 สารละลายกรดบอริค

เตรียมสารละลายกรดบอริคเข้มข้น 4 เปอร์เซนต์(น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยใช้น้ำกลั่น เป็นตัวทำละลาย

ข-2.3.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 50 เปอร์เซนต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

ข-2.3.3 สารละลายกรดเกลือ

เตรียมสารละลายโปแตสเซียมไฮโดรเจนแพทาเลทเข้มข้น 0.1 นอร์มัล ปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วเติมอินดิเคเตอร์ (ได้แก่ ฟีนอฟทาลีนเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์โดยปริมาตรซึ่งมีเอธานอล เป็นตัวทำละลาย) 3 หยด จากนั้นไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ ที่เตรียมให้ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล คำนวนหาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยใช้สูตร

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

เตรียมสารละลายกรดเกลือ เข้มข้น 1 นอร์มัล แล้วเติมอินดิเคเตอร์ (ฟีนอฟทาลีนเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร มีเอธานอลเป็นตัวทำละลาย) 3 หยดไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ (ความเข้มข้นที่คำนวนได้ข้างต้น) คำนวนหาความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือโดยใช้สูตรข้างต้น

ข-2.3.4 อินดิเคเตอร์

ข-2.3.4.1 ฟีนอฟทาลีน

ละลายฟีนอฟทาลีน 1 กรัม โดยใช้เอธานอล 95 เปอร์เซนต์ เป็นตัวทำละลายปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

ข-2.3.4.2 อินดิเคเตอร์ผสม

ผสมสารละลายเมทธิลีนบลูเข้มข้น 0.2 % ในเอทานอลเข้ากับสารละลายเมธิล-เรดเข้มข้น 0.2 เปอร์เซนต์ ในเอทานอลในอัตราส่วน 1:2 โดยปริมาตร

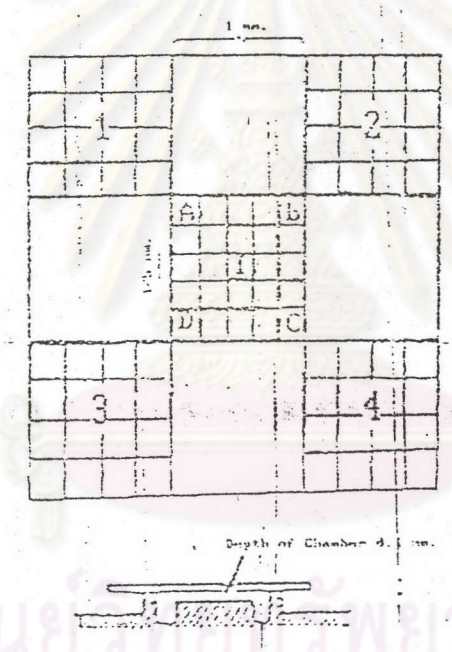
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข-3 อุปกรณ์สำหรับเตรียมสปอร์ของเชื้อรา

ข-3.1 การนับสปอร์โดยวิธี Hemacytometer (สุจิมา รักษาศีล, 2533)

หาจำนวนสปอร์โดยนับสปอร์ในช่องใหญ่ 5 ช่อง โดยในแต่ละช่องใหญ่ให้นับ 8 ช่อง ดังแสดงในช่องข้างล่าง

จำนวนสปอร์ = 1/4จำนวนสปอร์ในช่องเล็ก X $10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร

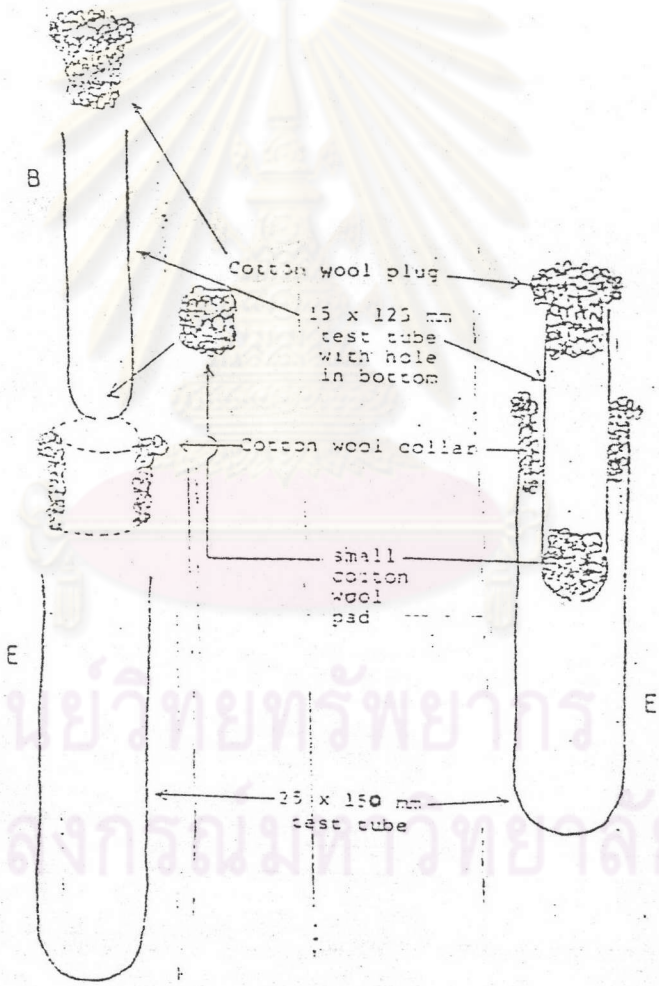



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข-3.2 Filter tube spore suspension (Hopewood, 1985)

เตรียมหลอดกรองสปอร์ดังรูปแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที ความดันไอ 15 psi

วิธีใช้ กรองสปอร์แขวนลอยผ่านหลอด B และนำสปอร์แขวนลอยที่กรองได้ในหลอด E ไปใช้




ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข-2.4 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

ข-2.4.1 การเตรียมสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ พีเอช 3.70-5.60

X = ปริมาตรของสารละลาย $CH_3COONa.\ 3\ H_2O$ เข้มข้น 0.2 โมลาร์

Y = ปริมาตรของสารละลาย $CH_3COOH$ เข้มข้น 0.2 โมลาร์

นำสารละลาย $CH_3COONa.\ 3\ H_2O$ จำนวน X มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย $CH_3COOH$ จำนวน Y มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

**ตารางที่** ข-2.4.1 การเตรียมสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์พีเอช 3.70-5.60 ที่ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (ลักขณา มีน่วม และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2529)

| พีเอช | X มล. (0.2 M. $CH_3COONa.\ 3\ H_2O$) | Y มล.(0.2 M. $CH_3COOH$) |
|---|---|---|
| 3.7 | 10.0 | 90.0 |
| 3.8 | 12.0 | 88.0 |
| 4.0 | 18.0 | 82.0 |
| 4.2 | 26.5 | 73.5 |
| 4.4 | 37.0 | 63.0 |
| 4.6 | 49.0 | 51.0 |
| 4.8 | 59.0 | 41.0 |
| 5.0 | 70.0 | 30.0 |
| 5.2 | 79.0 | 21.0 |
| 5.4 | 86.0 | 14.0 |
| 5.6 | 91.0 | 9.0 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข-2.4.2 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 5.80-8.00

X = ปริมาตรของสารละลาย $Na_2HPO_4$. 12 $H_2O$ เข้มข้น 0.1 โมลาร์

Y = ปริมาตรของสารละลาย $NaH_2PO_4$. $2H_2O$ เข้มข้น 0.1 โมลาร์

นำสารละลาย $Na_2HPO_4$. 12 $H_2O$ จำนวน X มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย $NaH_2PO_4$. $2H_2O$ จำนวน Y มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

**ตารางที่** ข-2.4.2 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 5.80-8.00 ที่ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (ลักขณา มีน่วม และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2529)

| พีเอช | X มล. (0.1 M.$Na_2HPO_4$. $12H_2O$) | Y มล.(0.2 M.$NaH_2PO_4$.$2H_2O$) |
|---|---|---|
| 5.8 | 4.00 | 46.0 |
| 6.0 | 6.15 | 43.85 |
| 6.2 | 9.25 | 40.75 |
| 6.4 | 13.25 | 36.75 |
| 6.6 | 18.75 | 31.25 |
| 6.8 | 24.50 | 25.5 |
| 7.0 | 30.50 | 19.5 |
| 7.2 | 36.00 | 14.0 |
| 7.4 | 40.50 | 9.5 |
| 7.6 | 43.50 | 6.5 |
| 7.8 | 45.75 | 4.25 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข-2.4.3 การเตรียมสารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์ พีเอช 4.20-6.20

X = ปริมาตรของสารละลาย $C_6H_8O_7 . H_2O$ เข้มข้น 0.05 โมลาร์

Y = ปริมาตรของสารละลาย $C_6H_5O_7Na_3 . 2 H_2O$ เข้มข้น 0.05 โมลาร์

นำสารละลาย $C_6H_8O_7 . H_2O$ จำนวน X มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย $C_6H_5O_7Na_3 . 2 H_2O$ จำนวน Y มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

**ตารางที่ ข-2.4.3** การเตรียมสารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์พีเอช 4.20-6.20 ที่ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (ลักขณา มีน่วม และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2529)

| พีเอช | X มล.(0.05 M.$C_6H_8O_7 . H_2O$) | Y มล.(0.05 M.$C_6H_5O_7Na_3 . 2H_2O$) |
|---|---|---|
| 4.2 | 54.0 | 46.0 |
| 4.4 | 49.5 | 50.5 |
| 4.6 | 44.5 | 55.5 |
| 4.8 | 40.0 | 60.0 |
| 5.0 | 35.0 | 65.0 |
| 5.2 | 30.5 | 69.5 |
| 5.4 | 25.5 | 74.5 |
| 5.6 | 21.0 | 79.0 |
| 5.8 | 16.0 | 84.0 |
| 6.0 | 11.5 | 88.5 |
| 6.2 | 8.0 | 92.0 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข-2.4.4 การเตรียมสารละลายไบคาร์บอเนตบัฟเฟอร์ พีเอช 9.20-10.80

X = ปริมาตรของสารละลาย $Na_2CO_3$ เข้มข้น 0.1 โมลาร์

Y = ปริมาตรของสารละลาย $Na_2HCO_3$ เข้มข้น 0.1 โมลาร์

นำสารละลาย $Na_2CO_3$ จำนวน X มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย $Na_2HCO_3$ จำนวน Y มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

**ตารางที่ ข-2.4.4** การเตรียมสารละลายไบคาร์บอเนตบัฟเฟอร์พีเอช 9.20-10.80 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (ลักขณา มีน่วม และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2529)

| พีเอช | X มล.(0.1 M.$Na_2CO_3$) | Y มล.(0.1 M. $Na_2HCO_3$) |
|---|---|---|
| 8.8 | 10.0 | 90.0 |
| 9.1 | 20.0 | 80.0 |
| 9.4 | 30.0 | 70.0 |
| 9.5 | 40.0 | 60.0 |
| 9.7 | 50.0 | 50.0 |
| 9.9 | 60.0 | 40.0 |
| 10.1 | 70.0 | 30.0 |
| 10.3 | 80.0 | 20.0 |
| 10.6 | 90.0 | 10.0 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ค.

ค-1 การคำนวณหาแอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลส ตามวิธีใช้กรดไดไนโตรซาลิไซลิก

จากวิธีการทดลองที่ 3.8 อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 505 นาโนเมตร เทียบกลับมาเป็นความเข้มข้นของน้ำตาล D-glucose จากกราฟรูปที่ ก-1.2 คำนวณหาค่าแอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลส จาก

$$\text{ค่าแอคติวิตีต่อมิลลิลิตร} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ D-glucose}}{\text{ปริมาตรของเอนไซม์}} \times \frac{\text{ปริมาตรของสารละลายทั้งหมด}}{\text{เวลา}}$$

ตัวอย่างการคำนวณ

อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 505 นาโนเมตร ได้เท่ากับ 0.40 เทียบกลับมาเป็นความเข้มข้นของน้ำตาล D-glucose เท่ากับ 32.68 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ปริมาตรของสารละลายที่ทำปฏิกิริยาและเวลาในการหมักของเอนไซม์แต่ละชนิด ดังแสดงในตาราง

| ชนิด | เวลาในการหมัก | ปริมาตรของเอนไซม์ | ปริมาตรของสารละลายทั้งหมด |
|---|---|---|---|
| $C_0$ | 60 นาที | 0.5 มล. | 1.5 มล. |
| $C_1$ | 24 ชั่วโมง | 1.0 มล. | 11 มล. |
| $C_x$ | 45 นาที | 0.5 มล. | 1.5 มล. |
| $\beta$ | 60 นาที | 0.5 มล. | 1.5 มล. |

ดังนั้นสามารถคำนวหาแอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสได้ คือ

ค่าแอคติวิตีของ $C_0$ เท่ากับ :

$$\text{ค่าแอคติวิตีต่อมิลลิลิตร} = \frac{32.68 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร}}{0.5 \text{ มิลลิลิตร}} \times \frac{1.5 \text{ มิลลิลิตร}}{60 \text{ นาที}}$$

$$= 1.65 \text{ ไมโครกรัมต่อนาที}$$

$$= 1.63 \text{ ยูนิต (หน่วย)}$$

ค่าแอคติวิตีของ $C_1$ เท่ากับ :

$$\text{ค่าแอคติวิตีต่อมิลลิลิตร} = \frac{32.68 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร}}{1.0 \text{ มิลลิลิตร}} \times \frac{11 \text{ มิลลิลิตร}}{24 \text{ ชั่วโมง}}$$

$$= 14.98 \text{ ไมโครกรัมต่อนาที}$$

$$= 14.98 \text{ ยูนิต (หน่วย)}$$

ค่าแอคติวิตีของ $C_x$ เท่ากับ :

$$\text{ค่าแอคติวิตีต่อมิลลิลิตร} = \frac{32.68 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร}}{0.5 \text{ มิลลิลิตร}} \times \frac{1.5 \text{ มิลลิลิตร}}{45 \text{ นาที}}$$

$$= 2.18 \text{ ไมโครกรัมต่อนาที}$$

$$= 2.18 \text{ ยูนิต (หน่วย)}$$

ค่าแอคติวิตีของ $\beta$ เท่ากับ :

$$\text{ค่าแอคติวิตีต่อมิลลิลิตร} = \frac{32.68 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร}}{0.5 \text{ มิลลิลิตร}} \times \frac{1.5 \text{ มิลลิลิตร}}{60 \text{ นาที}}$$

$$= 1.14 \text{ ไมโครกรัมต่อนาที}$$

$$= 1.14 \text{ ยูนิต (หน่วย)}$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค-2 <u>การวิเคราะห์ผลทางสถิติ แบบการเปรียบเทียบแบบรวมกลุ่ม</u>

การเปรียบเทียบแบบรวมกลุ่ม คือ ไม่มีการจับคู่ แต่แบ่งสิ่งทดลองทั้งหมดออกโดยสุ่มเป็น 2 พวก และให้ทรีทเมนต์โดยการสุ่มเช่นกัน การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง 2 กลุ่มกระทำโดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย เช่น $X_1-X_2$ ซึ่งมีการประมาณความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของประชากร คือระหว่าง $_1-\ _2$ การตรวจสอบโดยการคำนวณค่า

$$t = \frac{(X_1-X_2)-(\ _1-\ _2)}{{}^{c}X_1-X_2}$$

โดยกำหนดว่า $(X_1-X_2)$ กระจายตามแบบปกติ (normal distribution) และอิสระ

การตรวจสอบ null hypothesis $H_o = \ _1 = \ _2$ เมื่อทราบค่าที่ใช้ตรวจสอบ

$$z = \frac{(X_1-X_2)\ \sqrt{n}}{\sqrt{2}}$$

นำค่า Z คำนวณได้ไปเปรียบเทียบกับค่า Z ในตาราง

การรวมค่าประมาณของวาเรียนซ์ จากแต่ละตัวแทนคำนวณวาเรียนซ์ได้ ซึ่งเป็นค่าประมาณของ $^2$ อาทิ $s_1^2$ และ $s_2^2$ ถ้าตัวแทนทั้งสองมีค่าสังเกตเท่ากัน คือ n ดังนั้น df สำหรับ $s^2$ เท่ากับ 2(n-1) หรือผลรวมของ df สำหรับ $s_1^2$ และ $s_2^2$ ในการตรวจสอบความแตกต่าง คำนวณจาก

$$t = \frac{(X_1-X_2)\ \sqrt{n}}{s\sqrt{\ n}}$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง.

ตารางที่ ง-1 ปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของอาหารชนิดต่าง ๆ
(กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีน)

| กรดอะมิโน | เนื้อ | ปลา | ถั่วเหลือง | นมผง |
|---|---|---|---|---|
| THREONINE | 4.6 | 4.2 | 4.0 | 4.57 |
| ISOLEUCINE | 3.3 | 4.60 | 5.40 | 4.28 |
| LEUCINE | 12.5 | 7.3 | 7.70 | 16.28 |
| LYSINE | 8.3 | 7.0 | 6.5 | 7.43 |
| METHIONINE | 4.2 | 2.6 | 1.4 | 4.0 |
| CYSTINE | - | 1.0 | 1.4 | - |
| PHENYLALANINE | 4.6 | 4.0 | 5.1 | 5.71 |
| VALINE | 3.3 | 5.2 | 5.0 | 5.43 |
| TRYPTOPHAN | 1.3 | 1.2 | 1.5 | 1.71 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ประวัติผู้เขียน

นาย ปิยทัศน์ พุ่มทองตรู สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขา เทคโนโลยีทางอาหาร จากคณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในปี พ.ศ. 2531 เข้าทำงานในตำแหน่งพนักงานผลิตภัณฑ์ 4 องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค.) สังกัด กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ปี พ.ศ. 2531 ถึง 2534 และเข้าศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตั้งแต่ปีการศึกษา 2533

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย