เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

วาสนา แสงพิทักษ์, ไพเราะ ปิ่นพานิชการ, โสภณ เรืองสาราญ, สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสตร์ และนสิน นิลอุบล, " Bioconversion of *Puerraria mirifica* Sterols into 4- androstene - 3, 17 - dione (AD) by *Mycobacterium fortuitum*, " การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 14, หน้า 416-417, ห้างหุ้นส่วนจำกัดพันนี่พับบลิชชิ่ง, กรุงเทพมหานคร, 2531.

ภาษาอังกฤษ

Arima, K.M., Nagasawa, M.B., and Tamura,G., " Microbial Tranformation of Sterols Part I. Decomposition of Cholesterol by Microorganisms, " Agric. Biol. Chem. , 33, 1636-1643, 1969.

Bammi, R.K., and Randhawa, G.S., Dioscorea Improvement Project Status Report, vol.18, pp. 61-62, 1972.

Bernfeld, P. " Amylase, α and β , " Method in Enzymology (Colowick, P.S. and Kaplan, O.N. eds.), vol 1,149, Academic Press Inc. Publishers, N.Y., 1955

Boehme, K.H., and Hoerhold, C., Z. Allg. Mikrobiol., 20, 85, 1980

Burton, K., Biochem. J. , 61, 473, 1955.

Capek, A., Hanc, O., and Tadra, M., " Chemistry of Steroids, " Microbial Transformations of Steroids, pp. 11-13, Academia, Prague, 1966.

Clark, J,M., and Switzer, R.L., " Isolation of Bacterial DNA," Experimental Biochemistry, pp. 229-231, W.H.Freeman and Company, Sanfrancisco, 1977.

Conner, A.N., Nagaoka, M., Rowe, J.W., and Perlman, D., " Microbial Conversion of Tall Oil Sterols to C_{19} Steroids, "Appl. Environ. Microbiol., 32, 310 - 311, 1976.

Crueger, W., and Crueger, A., " Transformation of Steroids and Sterols, "Biochemistry. A textbook of Industrial Microbiogy, pp. 254-260, Science Tech, Inc., Madison, 1984.

Fieser, L.F., and Fieser, M., Steroids, pp. 504, Reinhold Publ. Corp., New York, 1959.

Fiesher and Fiesher, Steroids, 555-556, 1959.

Hillis, W.E., Wood Extractives and their Significance to the Pulp and Paper Industries, pp. 400-401, Academic Press, New York, 1967.

Huggett, A. St. G. and Nixon, D.A., " Enzymatic Determination of Blood Glucose, " Biochem. J., 66, 1, 12, 1957.

Hzuka, H., and Naito, A., " Microbial Transformation of Steroid Hormones, " Microbial Transformation of Steroids and Alkaloids, pp 39-61, University of Tokyo Press, ToKyo, 1967.

Imschenetskii, A.A., Efimochkina, E.F., Zanin, V.A., and Nikitin, L.E., " Decomposition of Cholesterol by Mycobacteria, " Mikrobiologiya, 37, 1, 31-37, 1968.

Kans, S., Tanaka, K., Hibons, I., and Shibuya, S., " New Synthesis of Corticosteroids from 17-keto Steroids : Application and Stereochemical. Study of the Unsaturated Sulfoxide-Sulfonate, " J. Org. Chem. ,1582-1584, 1979.

Kick-Othmer , " Steroids, " Encyclopedia of Chemical Technology, pp. 645-729, Wiley-Interscience, 1983.

Kimura et al., " Benzene, " The Merck Index, 10^{th} ed., pp.166, Merck I Co., Inc. New Jersey, 1983.

Kieslich, K., " Steroid Conversions, " Microbial Enzymes and Bioconversion (Rose, A.H.ed.) vol.5, pp.439-453, Academic Press Inc., London, 1980.

Koepsell, H.J., "1-Dehydrogenation of Steroid by Septomyxa affinis., " Biotechnol. Bioeng., 4, 57-63, 1962.

Kominek, L.A., " Process for the Microbiological 1-Dehydrogenation of Certain 4,9-(11)-Pregnadienes, " US. Patent 3,770,586, 1973.

Lee, B.K., Brown, W.E., Ryn, D.Y. Jacobson, H., and Thoma, R.W., " Influence of Mode of Steroid Substrate Addition on Conversion of Steroid and Growth Characteristics in a Mixed Culture Fermentation, " J. Gen. Microbiol., 61, 97-105, 1970.

Lehman, R.W., and Embree, N.D., " Soybean Oil Sterols," Soybean and Soybean porducts, vol 2, pp. 836-847, Interscience Publisher, Inc., New York, 1951.

Lowenstein, Ann. Inst. Pasteus., 50, 161, 1953.

Mann, K.M., Hanson, F.R., O' Connell, P.W. Anderson, H.V., Brunner, M.P., and Karmemaat, J.N., " Studies of the Microbiological Oxidation of Steroids by *Cunninghamella blakesleeana* H-334. I. The Effect of Alcohol and Phenol, " Appl. Microbiol., 3, 14-16, 1955.

Marsheck, W.J., Heights, A., and Kraychy, S., " Selective Microbiological Preparation of Androst-4-ene-3, 17-dione," US. Patent 3,759,791, 1973.

Marsheck, W.J., Kraychy, S., and Muir, R.D., " Microbial Degradation of Sterols, " Appl. Microbiol., 23, 72-77, 1972.

Martin, C.K.A., Adv. Appl. Microbiol. , 22, 29, 1977.

_____., " Sterols, " Biotechnology (Rehm, H.J., and Reed, G.eds.), vol. 6a, pp. 2-19, Verleg Chemie, Florida. Basel, 1984.

Martin, C.K.A., and Wagner, F., " Microbial Transformation of - Sitosterol by *Nocardia sp.* M 29, " Eur. J. Appl. Microbiol., 2, 243-255 , 1976.

Mhaskar, V.V., and Kulkarni, A.B., " Composition of Sugarcane Wax, " J. Sci. Ind. Kes., 16 B, 374-375, 1956.

Miesher, K. and Fischer, W.,US. Patent 2, 253, 798, 1941.

Miller, T.L., " Steroid Fermentations, " Comprehensive Biotechnology (Moo-Young, M.ed.), vol.3, pp. 297-318, Pergamon Press, New York, 1980.

Murray, H.C., " Microbiology of Steroids, " Industrial Microbiology (Miller, B.M., and Litsky, W.eds), pp. 79-105, McGraw-Hill Brook Co.Inc., New York, 1976.

Nagasawa, M., Bae, M., Tamura, G., and Arima, K., " Microbial Transformation of Sterols Part II. Cleavage of Sterol Chains by Microorganisms," Agric. Biol. Chem., 33, 11, 1644-1650, 1969.

Nagasawa, M., Harshiba, H., Watanabe, N., Bae, M., Tamura, G., and Arima, K., " Microbial Transformation of Sterols Part IV. C_{19}-Steriod Intermediates in the Degradation of Cholesterol by *Arthrobacter simplex,* " Agric. Biol. Chem., 34, 5, 801-804, 1970.

Nagasawa, M., Watanabe, N., Hashiba, H., Tamura, G. and Arima, K., " Microbial Transformation of Sterols Part III. Substrate Specificity for Cleaving Steroid Side Chains

by *Arthrobacter simplex*, " Agric. Biol. Chem., 34, 5, 798-800, 1979.

Nagasawa, M., Watanabe, N., Hashiba, H., Murakami, M., Bae, M., and Tamura, G., " Microbial Transformation of Sterols Part V. Inhibitiors of Microbial Degradation of Cholesterol, " Agric. Biol. Chem., 34, 6, 838-844, 1970.

O'Connell, P.W., Mann, K.M., Neilson, E.D., and Hanson, F.R., " Studies on the Microbiological Oxidation of Steroids by *Cunninghamella blakesleena* H-344 II. Medium Design, " Appl. Microbiol., 3, 16-20, 1955.

Peterson, D.H., " Microbial Transformations of Steroids and their Application to the Preparation of Hormones and Derivatives, " Biochemistry of Industrial Microorganism (Rainbow, R.ed.), pp. 537-605, Academic Press, New York, 1963.

Runyon, E.H., Wayne, L.G., and Kubica, G.P., " Family II Mycobacteriaceae, " Bergey's Manual of Determinative Bacteriolgy (Buchnan, R.E., and Gibbons, N.E. Co-editors), 8th ed., pp. 681-700, Williams Wilkins Company, Baltimore, 1974.

Ryu, D.D.Y., and Lee, B.K., " An Example of Process Optimization of Enzymetic Transformation of Steroids, " Proc. Biochem., 15-19, 1975.

Sonomoto, K., Usui, N., Tanaka, A., and Fukui, S., " 9α-Hydroxylation of 4-androstene-3, 17-dione by Gel-Entrapped *Corynebacterium sp.* Cells, " Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 17, 203-210, 1983.

Sauerbaum, J., Martin, C.K.A., and Wagner, F., 1 st Eur. Congr. Biotechnol., Interlaken 1978, pp. 138, 1978.

Schoemer, U., and Martin, C.K.A., Biotechnol. Bioeng., 22, Suppl. 1, 11, 1980.

Sih C.J., and Bennett, R.E., " Steroid 1- Dehydrogenase of *Nocardia restrictus*, " Biochim, Biophys. Acta, 56, 584-592, 1962.

Sikyta, B., " Culuture equipment, " Methods in Industrial Microbiology, pp. 38-42, Ellis Horwood Limited, Chichester, 1983.

Srivastava, S.K., Srivastava, R.A.K., and Mathur, S.N., "Biotransformation of Sugar-Cane Sterols into Androsta-1,4-diene-3, 17-dione (ADD) by *Arthrobacter globiformis* Str. Oxydans, " J. Appl. Bacteriol., 59, 399-402, 1985.

Takeda, R., Nakanishi, I., Terumichi, J., Uchida, M., Katsumata, M., Uchibayashi, M., and Nawa, H., " Transformation of Reichstein's substance S to prednisolone by Pseudomonas, " Tetrahedron Lett., 18, 17-19, 1959.

Thoma, R.W., Fried, J., Bonanno, S., and Grabowich, P., " Oxidation of Steroids by Microorganims IV. 16α-Hydroxylation of 9α-Fluorohydrocortisone and 9α-Fluoroprednisolone by *Streptomyecs roseochromogenes*, J. Am. Chem. Soc., 79, 4818, 1957.

Watanabe, K., Aihara, H., Tachi, N., and Nakamuka, R., "Degradation of Cholesterol-Degrading Bacteria, " J. Appl. Bacteriol., 151-155, 1987.

Watanabe, K., Shimizu, H., Aihara, H., Nakamura, R., Suzuki, K. I., and Komagata, K., " Isolation and Identification of Cholesterol Degrading Rhodococous Strains from Food of Animal Origin and their Cholesterol oxidase Activities, " J. Gen. Appl. Microbiol., 32, 137-147, 1986.

Whitmarsh, J.M., Biochem. J., 90, 23, 1964.

Wovcha, M.G., Antosz, F.J., Knight,J.C, Kominek, L.A., and Pyke, T.R., " Bioconversion of Sitosterol to Useful Steroidal Intermediates by Mutants of *Mycobacterium fortuitum*," Biochim. et Biophys. Acta , 531, 308-321, 1978.

Wovcha, M.G., and Biggs, C.B., " Process for Preparing Androst-4-ene- 3, 17-dione, " US. Patent 4,293,644 , 1981.

_____., " *Mycobacterium phlei* Mutants Convert Sterols to Androsta-1,4-deine-3,17-dione and Androsta-4-ene-3,17-dione, " US. Patent 4,345,029, 1982.

Wovcha, M.G., and Brooks, K.V., " Microorganisms and their Use in Producing Androst-4-ene-3,17-dione, " Eur. Patent 0,008,214, 1979.

_____., " *Mycobacterium fortuitum* Mutant, " US. Patent 4,345,034, 1982.

ภาคผนวก

1. สูตรอาหารที่ใช้ในการวิจัย

1.1 สูตรอาหารที่ใช้สำหรับเก็บรักษาเชื้อ *Mycobacterium fortuitum* CBS 313.79 โลเวนสไตน์-เจนเซน มีเดียมเบส อาการ์ (Lowenstein - Jensen medium base agar) ในอาหาร 1.6 ลิตร ประกอบด้วย

โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	2.5	กรัม
มักเนเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$)	0.24	กรัม
มักเนเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$)	0.38	กรัม
ไดแอมโมเนียมซิเตรท ($(NH_4)_2C_6H_6O_7$)	0.60	กรัม
แอสพาราจีน	3.6	กรัม
มันฝรั่ง	180.0	กรัม
กลีเซอรอล	12.0	กรัม
วุ้นผง	24.0	กรัม

อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

1.2 สูตรอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ

1.2.1 โลเวนสไตน์-เจนเซน มีเดียม เบส

สูตรตามภาคผนวกที่ 1.1 แต่ไม่เติมวุ้นผง

1.2.2 นิวเตรียนบรอทที่เสริม ผงสกัดยีสต์

เปปโตน (peptone)	5.0	กรัม
สารสกัดจากเนื้อ (beef extract)	3.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์ (yeast extract)	1.0	กรัม
น้ำก๊อก (tap water)	1	ลิตร

ปรับพีเอชเป็น 7.0 ก่อนอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

1.2.3 นิวเตรียนบรอทที่เสริมผงสกัดยีสต์ กลีเซอรอล ในอาหาร 1 ลิตรประกอบด้วย

เปปโตน	5.0	กรัม
สารสกัดจากเนื้อ	3.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	1.0	กรัม
กลีเซอรอล	5.0	กรัม

ปรับพีเอชเป็น 7.0 ก่อนอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.2.4 นิวเตรียนบรอทที่เสริมผงสกัดยีสต์ กลีเซอรอลและทวีน 80 ในอาหาร 1 ลิตรประกอบด้วย

เปปโตน	5.0	กรัม
สารสกัดจากเนื้อ	3.0	กรัม
ผงสกัดยีสต์	1.0	กรัม
กลีเซอรอล	5.0	กรัม
ทวีน 80	1.0	กรัม

ปรับพีเอชเป็น 7.0 ก่อนอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.3 สูตรอาหารเหลวเพื่อผลิต 4-แอนโดรสตีน-3,17-ไดโอน เมื่อปรับสูตรแล้ว (Wovcha และ Biggs, 1981) ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

คอร์นสตีพลิเคอร์	5.0	กรัม
โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.5	กรัม
แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$)	3.0	กรัม
มักเนเซียมซัลเฟต	2.0	กรัม
ยูเรีย	0.5	กรัม
ทวีน 80	2.0	กรัม
ไดแอมโมเนียมซิเตรท	2.3	กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	2.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	0.4	กรัม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลึกสเตียรอล	1.0	กรัม

(ละลายในคลอโรฟอร์มปริมาตร 20 มล.)

ปรับพีเอชเป็น 7.0 ก่อนอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.4 <u>สูตรอาหารเหลวเพื่อหาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม</u> ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

แหล่งคาร์บอน	5.0	กรัม
แคลเซียมคาร์บอเนต	3.0	กรัม
โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.5	กรัม
มักเนเซียมซัลเฟต	2.0	กรัม
ยูเรีย	0.5	กรัม
ทวีน 80	2.0	กรัม
ไดแอมโมเนียมซิเตรท	2.3	กรัม
แอมโนเนียมคลอไรด์	2.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	0.4	กรัม
ผลึกสเตียรอล	1.0	กรัม

(ละลายในคลอโรฟอร์มปริมาตร 20 มล.)

ปรับพีเอชเป็น 7.0 ก่อนอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.5 <u>สูตรอาหารเหลวเพื่อหาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม</u> ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

สารละลายแป้งที่ย่อยด้วยเอนไซน์เทอร์มามิล ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ 20.8 % (นน./นน.) 5.0 กรัม

แหล่งไนโตรเจน (โดยมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด)	0.80	กรัม
โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.5	กรัม
แคลเซียมคาร์บอเนต	3.0	กรัม
มักเนเซียมซัลเฟต	2.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	0.4	กรัม

ทวีน 80	2.0	กรัม
ผลึกสเตียรอล	1.0	กรัม

(ละลายในคลอโรฟอร์มปริมาตร 20 มล.)

ปรับพีเอชเป็น 7.0 ก่อนอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.6 สูตรอาหารเหลวเพื่อหาสภาวะทางกายภาพที่เหมาะสมในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

สารละลายแป้งย่อยด้วยเอนไซม์เทอร์มามิล ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ 20.8 % (นน./นน.)	5.0	กรัม
ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต [$(NH_4)_2HPO_4$]	2.36	กรัม

(ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.50 กรัม)

โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.5	กรัม
แคลเซียมคาร์บอเนต	3.0	กรัม
มักเนเซียมซัลเฟต	2.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	0.4	กรัม
ทวีน 80	2.0	กรัม
ผลึกสเตียรอล	1.0	กรัม

(ละลายในคลอโรฟอร์มปริมาตร 20 มล.)

ปรับพีเอชเป็น 7.0 ก่อนอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

2.1 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในปฏิกิริยาไดฟีนิลลามีน (diphenylamine reaction)

2.2.1 สารละลายไดฟีนิลลามีน : ประกอบด้วย ไดฟีนิลลามีน 1.5 กรัม กรดอะซิติก 100 มล. และ กรด ซัลฟุริก 1.5 มล. เก็บสารละลายในที่มืด

2.2.2 สารละลายอะเซททอลดีไฮด์ : ประกอบด้วย อะเซททอลดีไฮด์ (0.78 กก.ต่อลิตร) 0.20 มล. เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มล.

2.2.3 สารละลายซาไลน์ซิเตรท : ประกอบด้วย โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.15 โมลาร์ และโซเดียมซิเตรท 0.015 โมลาร์

2.2 การเตรียมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (Dinitrosalicylic acid : DNSA reagent

ละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก 1 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ ปริมาตร 20 มล. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 50 มล. และเติมโปตัสเซียมโซเดียมตาเตรท (potassium sodiumtartate ; $C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$) 30 กรัม ทำปริมาตรสุดท้าย เป็น 100 มล.ด้วยน้ำกลั่น

2.3 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการหาปริมาณกลูโคส

การเตรียมสารละลาย พี.จี.โอ เอนไซม์ (P.G.O. Enzymes, Sigma chemical, U.S.A) ละลาย พี.จี.โอ. เอนไซม์ 1 แคปซูล (capsule) ซึ่งประกอบด้วยกลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) 500 หน่วย เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) 100 หน่วย และบัฟเฟอร์ในน้ำกลั่น 60 มล. เติมสารละลายของโอ-ไดอะนิซิดีน (o-dianisidine) 1 เปอร์เซนต์ใน 95 เปอร์เซนต์เอธานอล (Ethanol, ปริมาตร 0.5 มล. ทำปริมาตรให้เป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่นใส่ขวดสีน้ำตาลเก็บไว้ในตู้เย็น

2.4 การเตรียมสารละลายที่ใช้ใน Kjeldahl Method

2.4.1 ของผสมของเกลือ (salt mixture) : ประกอบด้วยโปแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 95 กรัม และคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) 5 กรัม

2.4.2 อินดิเคเตอร์ผสม (mixed indicator) : ละลายเมธิลเรด (methyl red) และเมทธิลลีนบลู (methylene blue) 0.1 กรัมในเอทธานอล (ethanol) เข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 150 มล.

2.4.3 สารละลายมาตรฐานกรดกำมะถัน (H_2SO_4)เข้มข้น 0.1 นอร์มอล หาความเข้มข้นแน่นอน โดยการติเตรทกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์

3. ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ของสารละลายแป้งที่ย่อยด้วยเอนไซม์เทอร์มามิลซึ่งมีเปอร์เซนต์ของน้ำตาลรีดิวส์ (นน./นน.) ต่าง ๆ วิเคราะห์โดยวิธีของ Bernfeld (1955)

เปอร์เซนต์ของน้ำตาลรีดิวส์ (นน./นน.)ในสารละลายแป้งย่อยด้วยเอนไซม์เทอร์มามิล	ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (กรัม/มล.)
7.9	0.024
15.6	0.048
20.8	0.066
28.8	0.091

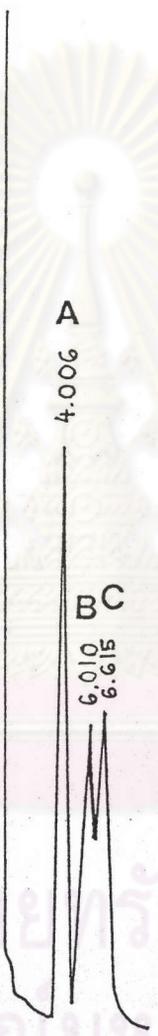
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. <u>ปริมาณของแข็งของสารละลายแป้งที่ย่อยด้วยเอนไซม์เทอร์มามิล ซึ่งมีเปอร์เซนต์ของน้ำตาลรีดิวส์ (นน./นน.) ต่าง ๆ</u>

เปอร์เซนต์ของน้ำตาลรีดิวส์ (นน./นน.)ในสารละลายแป้งย่อยด้วยเอนไซม์เทอร์มามิล	ปริมาณของแข็งทั้งหมด (กรัม/มล.)
7.9	0.3098
15.6	0.3105
20.8	0.3170
28.8	0.3158

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. ลักษณะของแกสโครมาโตแกรมของสารตั้งต้นสเตียรอลที่สกัดจากกวาวเครือขาว ซึ่งประกอบด้วยสารสติกมาสเตียรอลและ เบตา - ซิโตสเตียรอล



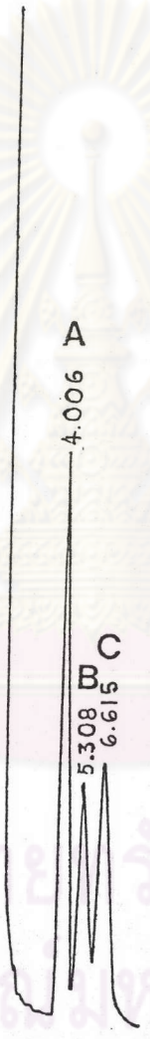
A คือ สารมาตรฐานเปรียบเทียบ คอเลสเตียรอล

B คือ สารสติกมาสเตียรอล

C คือ สารเบตา-ซิโตสเตียรอล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. ลักษณะของแกสโครมาโตแกรมของสารมาตรฐานแคมเพสเตียรอล สารมารตรฐานเบตา-ซิโตสเตียรอลและสารมาตรฐานเปรียบเทียบคอเลสเตียรอล



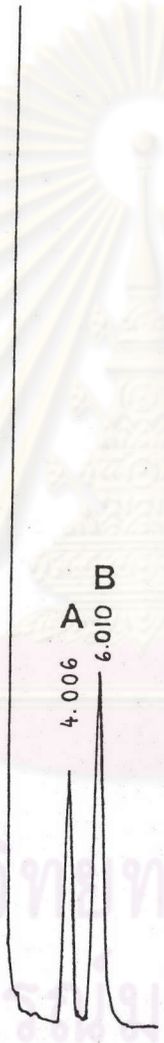
A คือ สารมาตรฐานเปรียบเทียบคอเลสเตียรอล

B คือ สารมาตรฐานแคมเพสเตียรอล

C คือ สารมาตรฐานเบตา-ซิโตสเตียรอล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7. ลักษณะของแกสโครมาโตแกรมของสารมาตรฐานสติกมาสเตียรอลและสารมาตรฐานเปรียบเทียบ คอเลสเตียรอล

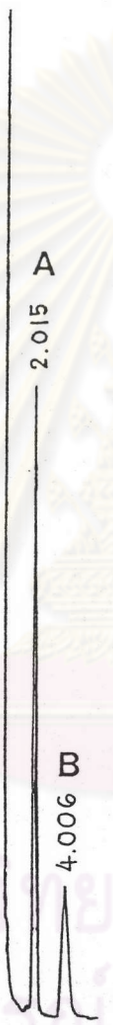


A คือ สารมาตรฐานเปรียบเทียบคอเลสเตียรอล

B คือ สารมาตรฐานสติกมาสเตียรอล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

8. สักษณะของแกสโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน AD และสารมาตรฐานเปรียบเทียบคอเลสเตียรอล

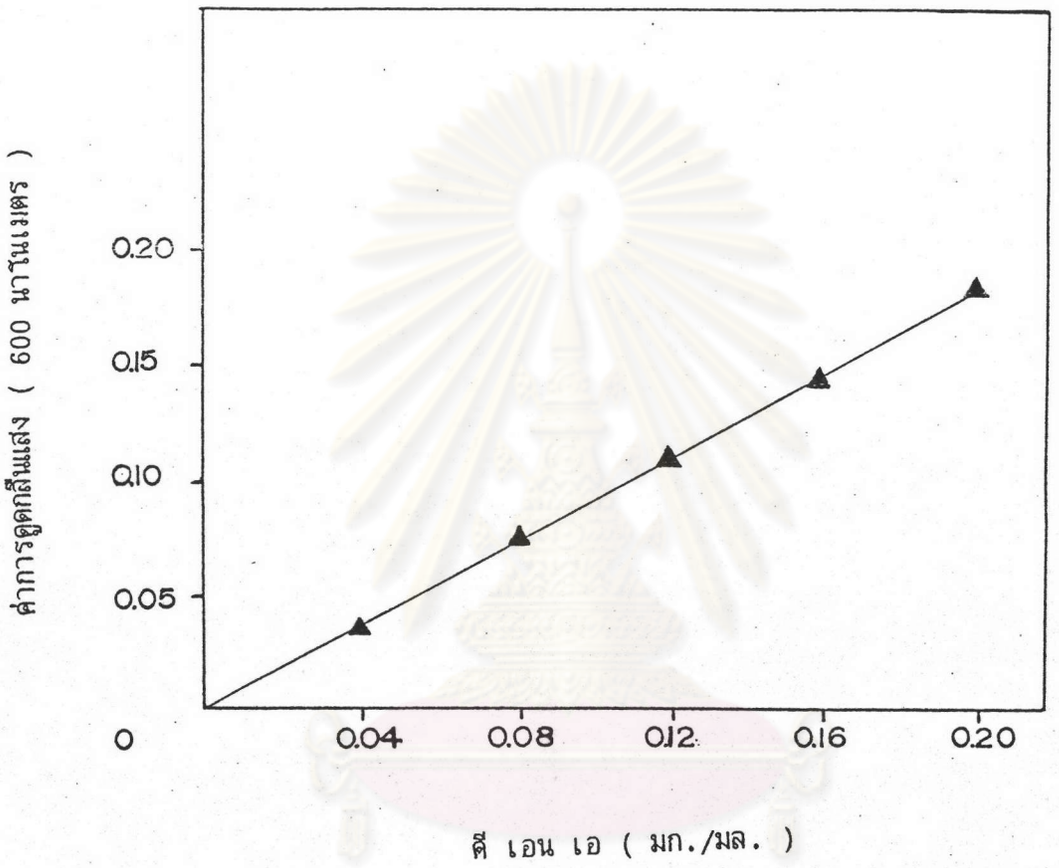


A คือ สารมาตรฐาน AD

B คือ สารมาตรฐานเปรียบเทียบคอเลสเตียรอล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

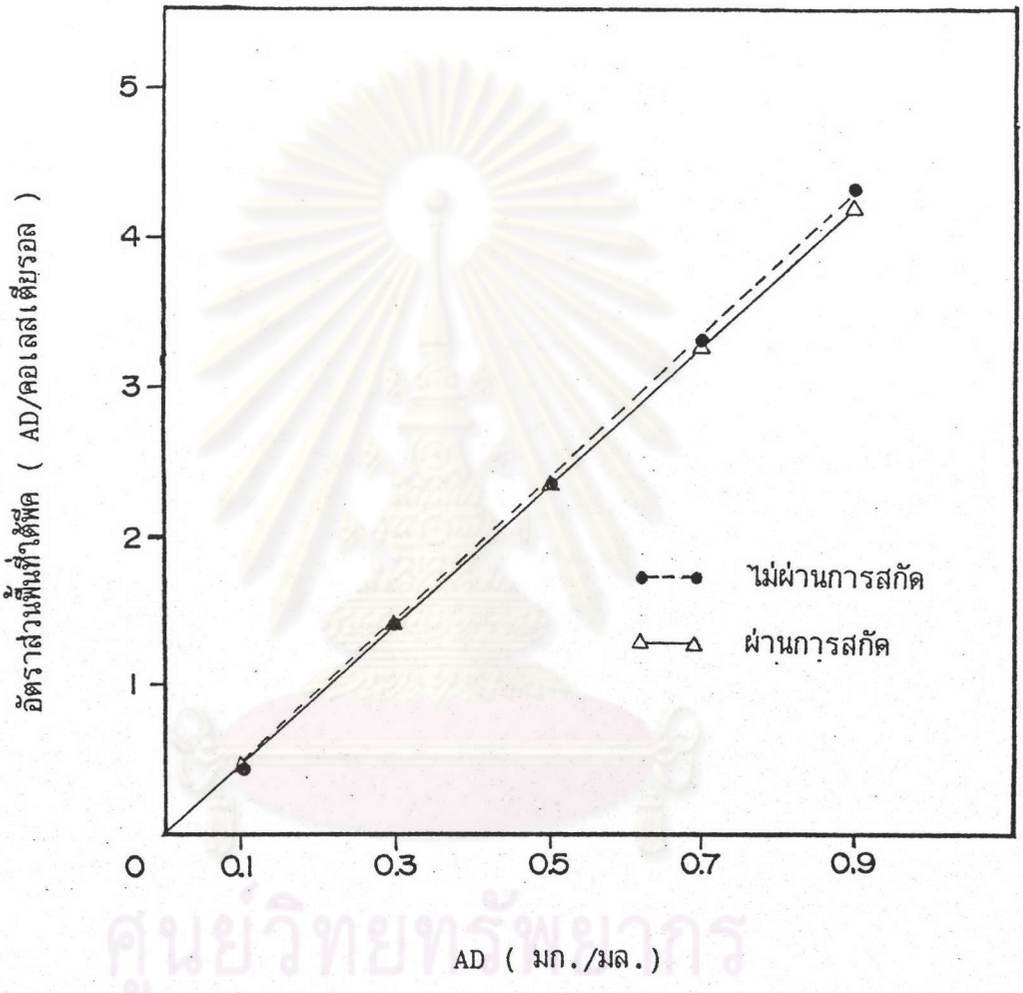
9. กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณ ดี เอน เอ โดยปฏิกิริยาของไดฟีนิลลามีน



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

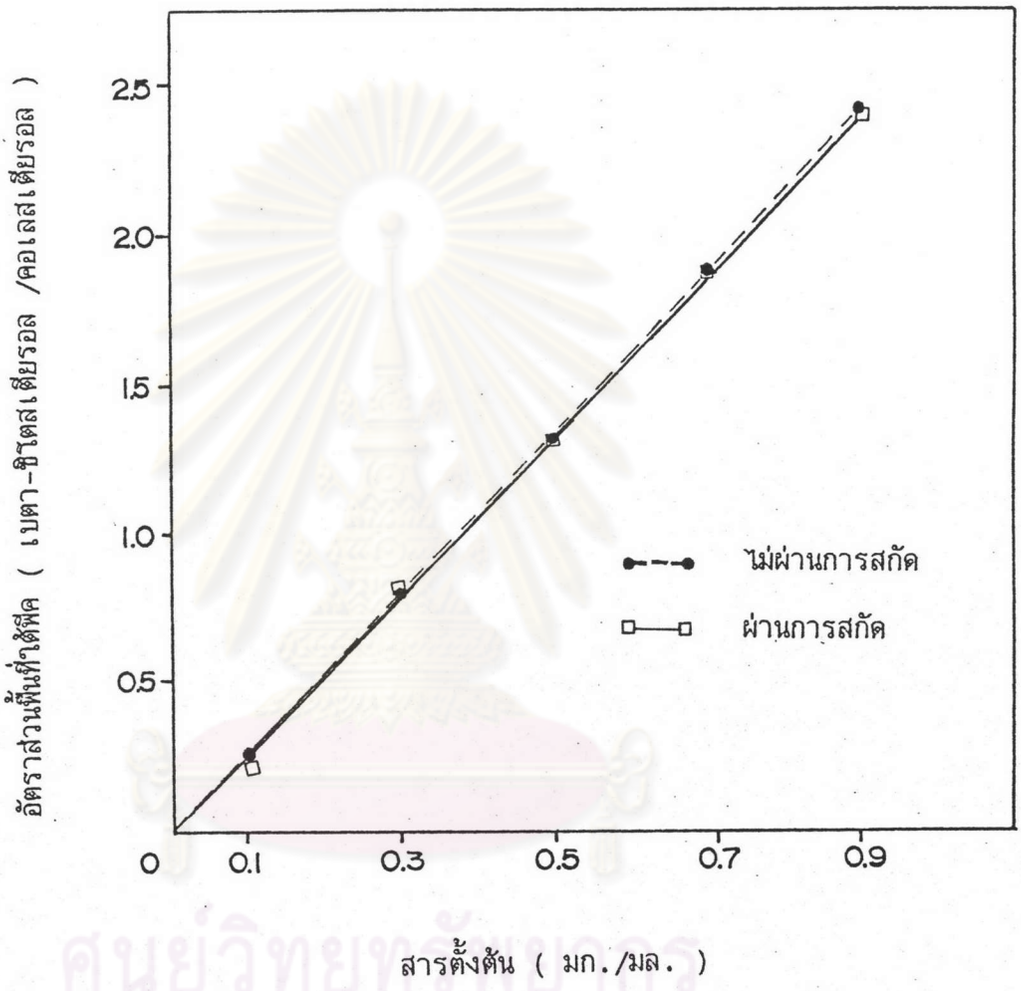
10. กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณ AD

(สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสร้าง AD จากสเตียรอลโดย *Mycobacterium fortuitum* CBS 313.79 ในระดับขวดเขย่า)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

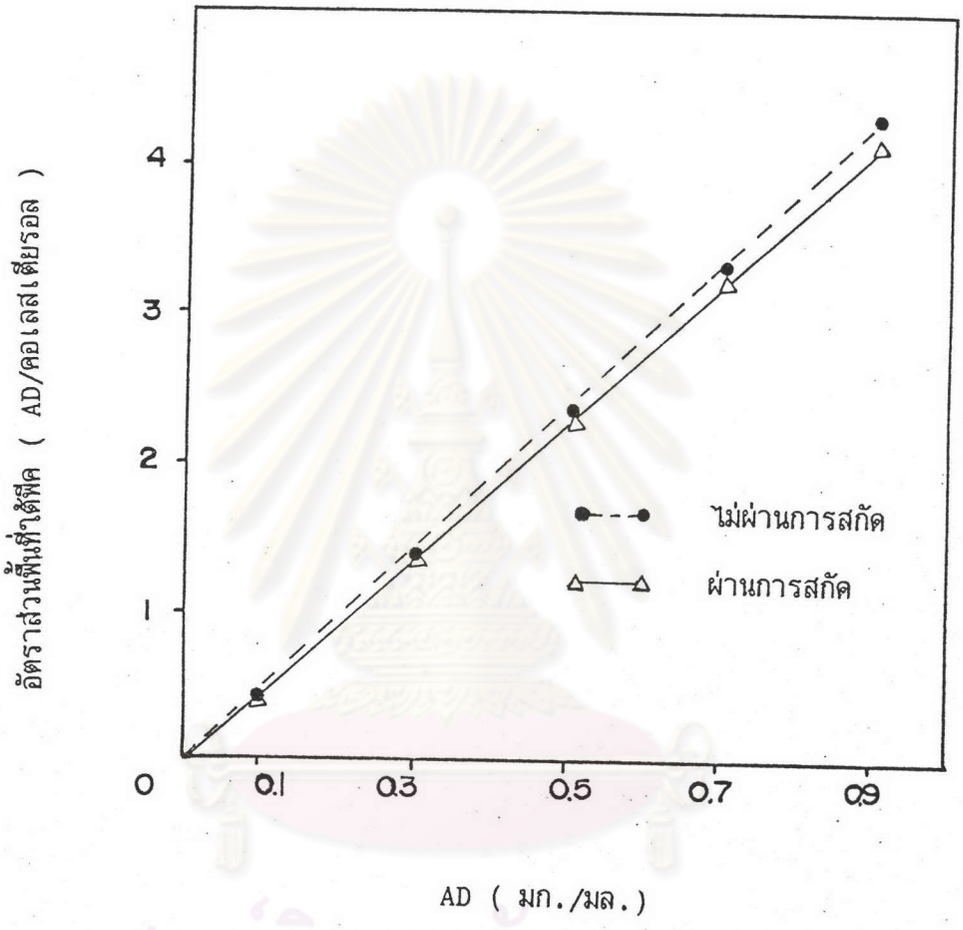
11. กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณเบตา-ซิโตสเตียรอล



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

13. กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณ AD

(วิธีการสกัดแยกและทำ AD ให้บริสุทธิ์)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

14. วิธีเตรียมผลึกสเตียรอลเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสเตียรอลโดยแกสโครมาโตกราฟี

คอเลสเตียรอลเข้มข้น 2 มก./มล. ปริมาตร	0.1 มล.
ผลึกสเตียรอลเข้มข้น 1 มก./มล. ปริมาตร	0.5 มล.
เอทธิลอะซีเตท ปริมาตร	0.4 มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

15. ปริมาณสเตียรอลในผลึกสเตียรอลที่ใช้เป็นสารตั้งต้นเมื่อวิเคราะห์โดยวิธีแกสโครมาโตกราฟี เทียบกับกราฟมาตรฐานของสติกมาสเตียรอล และกราฟมาตรฐานของเบตา-ซิโตสเตียรอล

พบว่า จากน้ำหนักของผลึกสเตียรอลที่เตรียมได้ 1 มก. ประกอบด้วย

สติกมาสเตียรอล 0.4590 มก.

และเบตา-ซิโตสเตียรอล 0.3816 มก.

ดังนั้นผลึกสเตียรอล 1 มก.มีปริมาณสเตียรอลทั้งหมด = 0.4590 + 0.3816

= 0.8406 มก.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

16. วิธีคำนวณหาปริมาณ AD ในขั้นตอนหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสร้าง AD จากสเตียรอลโดย *Mycobacterium fortuitum* CBS 313.79

$$\text{ปริมาณ AD (มก.)} = \frac{\text{พื้นที่ใต้พีค}}{\text{พื้นที่ใต้พีคคอเลสเตียรอล}} \times 0.2096$$

(0.2096 คือค่า $\frac{1}{\text{slope}}$ ของกราฟมาตรฐานหาปริมาณ AD ซึ่งไม่ผ่านการสกัด)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

17. วิธีคำนวณหาปริมาณ AD ในขั้นตอนการสกัดแยก และทำ AD ให้บริสุทธิ์

$$\text{ปริมาณ AD (มก.)} = \frac{\text{พื้นที่ใต้พีค}}{\text{พื้นที่ใต้พีคคอเลสเตียรอล}} \times 0.2070$$

(0.2070 คือค่า $\frac{1}{\text{slope}}$ ของกราฟมาตรฐานหาปริมาณ AD ซึ่งไม่ผ่านการสกัด)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

18. วิธีคำนวณหาปริมาณ AD โดยคิดเป็นเปอร์เซนต์เมื่อเทียบกับสารตั้งต้น

มวลโมเลกุลของสติกมาสเตียรอล 412.7

มวลโมเลกุลของเบตา-ซิโตสเตียรอล 414.7

มวลโมเลกุลของสติกมาสเตียรอล และเบตา-ซิโตสเตียรอลโดยเฉลี่ย 413.7

มวลโมเลกุลของ AD 286.4

สารตั้งต้นสเตียรอล 413.7 กรัม ถ้าเปลี่ยนเป็นผลิตผล 100 % จะได้ AD 286.4 กรัม

สารตั้งต้นสเตียรอล 0.8406 กรัม ถ้าเปลี่ยนเป็นผลิตผล 100 % จะได้ AD 0.5819 กรัม

ดังนั้นถ้าได้ผลิตผล AD 0.5819 มก. คิดเป็นเปอร์เซนต์เมื่อเทียบกับสารตั้งต้น = 100

ถ้าได้ผลิตผล X มก. คิดเป็นเปอร์เซนต์เมื่อเทียบกับสารตั้งต้น = $\frac{100 \text{ X}}{0.5819}$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางสาวบุปผา หลักเรืองทรัพย์ เกิดวันที่ 25 เมษายน พ.ศ. 2506 ในจังหวัดสงขลา ได้รับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา จากคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2527

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย