เอกสารอ้างอิง

คำพูน คุณากร สรวง อุดมวรภัณฑ์และธัชพล กิตติจิตต์. 2526 " การคัดแยกแบคทีเรีย Zymomonas สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างแอลกอฮอล์จากแหล่งน้ำตาลในธรรมชาติ " โครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ คณะวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ฉลอง กุญชร ณ อยุธยา. 2505. ปานศรนารายณ์ : กสิกร ปีที่ 35 เล่มที่ 1 หน้า 11-17.

พวงพร โชติกไกร. 2530. สรีระวิทยาของแบคทีเรีย. (MI 442) กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง, หน้า 289.

พรสวรรค์ ดิษยบุตร, ศิรินา อารยะรุ่งโรจน์, ทวี สัปปินันท์, อรรณพ จาฏามระ, ชาตรี สุชาการ. 2533. สาขาสิ่งแวดล้อมและทรัพยากร, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

พิสุทธิ์ ศาลากิจ. 2528. ปานศรนารายณ์ : เคหการเกษตร ปีที่ 8 ฉบับที่ 9 หน้า 11-12

สมศรี ศิริพิทยางกูร. 2524. สายพันธุ์ยีสต์ที่สร้างเอทธิลแอลกอฮอล์ในสภาพที่เหมาะสมจากน้ำอ้อย. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุนทร วงศ์สวัสดี. 2516. การแยกเชื้อราและศึกษาความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสของเชื้อรา, วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศูนย์ข้อมูลเพื่อพัฒนาอาชีพ ส.ม.ก. 2519. " ศรนารายณ์ " พืชเศรษฐี แต่คนจนก็ปลูกได้รายได้ดี: ข่าวสารเกษตรศาสตร์ ปีที่ 21 ฉบับที่ 2 หน้า 44-49.

นงลักษณ์ ศรินทุ และอมรรัตน์ ภูไพบูลย์. 2527. โรคของปานศรนารายณ์ : ข่าวศัตรูพืช ปีที่ 1 ฉบับที่ 1 หน้า 57-60.

น้อย เกษมสุขสกุล. 2529. การผลิตเซลลูเลสโดยเชื้อราที่ชอบอุณหภูมิสูงบนวัสดุที่เป็นของแข็ง, วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทรรษา บุณยะยัคฆ์. 2532. เอกสารประกอบการเรียนการสอนวิชาปฏิบัติการ Industrial Botany ภาควิชาพฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อัจฉราพร ไศละสูต. 2528. ปานศรนารายณ์ (Sisal) : วารสารฝ้ายและสิ่งทอ ปีที่ 8 ฉบับที่ 30 หน้าที่ 24-26.

Abdel-Hafez, S.I.T. 1982. Cellulose-Decomposing Fungi of Desert Soil in Saudi Arabia. Micopathologia. 76: 73-78.

Ahmad, M., Chaudhury, A.R. and Ahmad, K.U. 1954. Mycologia 46:708

Ayers, A., Sandra, B.A. and Karl-Erik, E. 1978. Cellobiose Oxidase, Purification and Partial Characterization of a Hemoprotein from Sporotrichum pulverrulentum. Eur. J. Biochem. 90:171-181.

Baranett, H.L. 1972. The Saccardo system of classification, 3 rd ed.

Bergey, D.H. 1974. Bergey 'Manual of Determinative Bacteriology. Baltimare : Williams.

Bennetzen, J. L., and Benjamin, D. H. 1982. The Primary Structure of The Saccharomyces cerevisiae Gene for Alcohol Dehydrogenase I. J. Biol. Chem. 257(6): 3018-3025.

Bland, S.M. and Douglas, E.E. 1985. Fungal Carbohydrases : Amylases and Cellulases. In Bennett, J.W. and Linda, L.L (ed.) , Gene Manipulations in Fungi, pp. 491-508. New York: Academic Press.

Ciriacy, M. 1975. Mol. Gen Genet. 138:157-164.

_____ , 1976. Mol. Gen Genet. 145:327-333.

Chavanich, S. Hajime, Y. and Shinsaku, H.1981. A Comparative Study of Cellulase and Xylanase Produed by Some Thermophilic Fungi. Microbial Utilization of Renewable Resources. JSPS-NRCT. Seminar on Agro-Industry Including Microbial Technology. 2: 72-76.

Chosson, J. and Dupuy, P. 1983. Improvement of the Cellulolytic Activity of a Natural Populaion of Aerobic Bacteria. Eur. J. App. Microbiol. Biotechnol. 18:163-167.

Dasilva, E. J. 1980. " Biofuels from Biomass." Microbial Utilization of Renewable Resources. 1:224-230.

Denis, C., Ciriacy, M. and Young, E.T. 1981. J.Mol.Biol. 148:355-368

Detroy, R.M. 1981. Bioconversion of Agricultural Biomass to Organicchemical. In I.V. Goldstein (ed), Organic Chemicals frome Biomass, pp.101-124. Florida:CRC Press.

Deshpande, V., Siva Raman, H., and Rao M. 1983. Biotechnol. Bioeng. 25: 1679.

Dunlap, C. E., and Lin - Chang, C. 1979. Cellulose Degradation - A Common Link. In M. L. Shuler (ed), Utilization and Recycle of Agricultuture Wastes and Residues, pp. 19-65. Florida: CRC Press, Inc.

Ethiraj, S., Suresh, E.R. and Onkarayya, H. 1980. J. Sci. Food and Agri. 31(6):611

Eriksson, K. E. 1983. Advances in Enzymatic Degradation of Lignocellulosics. Proc. Int. Symp. Ethanol Biomass. pp. 245-269.

_____ , 1978. Emzyme Mechanism Involved in Cellulase Hydrolysis by the Rot Fungus Sporotrichum pulverulentum. Biotechnol and Bioeng. 20:317-332.

F A O , 1974. Hard Fiber Research Series No 14, June.

Fagerstam, L. G., and Petterson, L. G. 1979. The Cellulolytic Complex of Trichoderma reessei QM 9414. An Immumological approach. FEBS lett. 98: 363-367.

_____, 1980. The 1,4 - B - glucane Cellobiohydrolase of Trichoderma reessei a New Type of Synergism. FEBS lett. 119: 97-110.

Gritzali, M., and Brown, R. D. Jr. 1979. The Cellulose system of Trichoderma. Adv. Chem. Ser. 181: 237-260.

Goldstein, I.S. 1981. Chemicals frome Cellulose. Organic Chemicals from Biomass, pp.101-124. Florida:CRC Press.

Goksoyr, J.C. and Eriksen, J. 1980. Cellulase In Economic Microbiology. Vol.5, 283-329, New York : Academic Press.

Hall, J. and Gibert, H. J. 1988. The Neucleotide Sequence of a Carboxymethylcellulose Gene from Pseudomonas fluorescens sub sp. cellulosa. Mol. Gen. Genet. 213(1): 112-117.

Han, Y. M., and Callihan, C.D. 1974. Cellulose Fermentation : Effect of Substrate Pretreament on Microbial Growth. Appl. Microbiol. 27:159-165.

Hankin, L. and Anagnostakis, S.L. 1977. Solid Media Contianing Carboxymethycellulose to Detect C_x Cellulase Activity of Microorganism. J. Gen. Microbiol. 98:109-115.

Hirayama, T., Sigeo, H., Hideo, N., and Kazuo, M. 1978. Studies on Cellulase of a Phytopathogenic Fungus, Pyricularia oryzae Cavara. J. Biochem. 84:27-37.

Hungate, R.E. 1947. Studies on Cellulose Fermentation .III. The Culture and isolation of Cellulose-Decomposing Bacteria from the Rumem of Cattle. J. Bacteroil 53:631-645.

Kanda, T., Shingo, N., Kasumaza, W., and Kazutosi, N. 1978. Purification and Properties of an Exo - Cellulase of Avicelase Type from a Wood - Rotting Fungus, Irpex lactous (Polyporus tulipiferae . J. Biochem. 84: 1217-1226.

Kawai, S., Honda, H., Tanase, T., Taya, M., Iijima, S. and Kobayashi, T. 1987. Molecular Cloning of Ruminococcus albus Cellulase gene. Agric. Biol. Chem. 51:59-63.

Kirk,T.k. 1983. Degradation and Conversion of Lignocellulose. In J. Smith, D. Bery, and B. Kristiansen (eds.), The Filamentous Fungi. Fungi Technology. 4: pp. 217-295. New York: John Willy & sons Inc.

Kumnuanta, J., Punpeng, B., Vongsuvanlert, V., Kanagata, K. and Taguchi, H. 1981. "Ethanol Fermentation by Flocculating Yeast." Microbial Utilization of Renewable Resources. 2:176-180.

Kunkee, R.E. and Amerine, M.A. 1970. Yeast in Wine Making, The Yeast, Vol 3, Yeast Technology. London and New York, Academic Press.

Laudrin-Seiller, I., Torrijos, M., Uribelarrea, J. L. and Goma, G. 1984. Alcoholic Fermentation by Zymomonas mobilis Effect of Innitial Substrate on Physiological Parameters. Biotechnology Letter. 6(7):477-480.

Lee, J. H., Pagan. R. J., and Rogers. P. L. 1983. Continuous Simultaneous Saccharification and Fermentation of Starch Using Zymomonas mobilis . Biotechnol. Bioeng. 25: 659-669.

Lee, G. M., Chul. H. K., Zainal, A. M. Yusof., Moon, H. H., and Sang. K. R. 1987. Sago Starch Saccharification and Simultaneous Ethanol Fermentation by Amyloglucosidase and Zymomonas mobilis. J. Chem. Tech. Biotechnol. 38: 235-242.

Lin, E., and David. B. W. 1988. Transcription of the cel E Gen in Thermomonospora fusca . J. Bacterial. 170(9): 3838-3842.

Lodder, J. 1974. The Yeasts : A Taxonomic Study. North-Holland Publishing Conpany.

Lock, G. W. 1969. Characteristic of Sisal Fiber. Sisal, pp. 281. London: Ballantyne and Co Ltd.

Loginova, L.G. and Tashpulatov, Zh. 1965. The Thermophilic Fungus Aspergillus fumigatus, Producing Active Cellulose. Mikrobiologiya. 34: 258-264.

Man, K. K., Soo, K. I. abd Hyun, Y. J. 1987. Molecula cloning Of an Endoglucanase Gene from an alkalophilic Bacillus sp. and Its Expression in Escherichia coli . App. Environ. Microbiol. 53 (11):2656-2659.

Mandels, M. and Sternberg, D. 1976. Recent Advance in Cellulose Technology. J. Ferment. Technol. 54(4):276-268.

_____ , Andreotti, R. and Roche, C. 1976. Measurement of Saccharifing Cellulase . Biotechnol Bioeng Symp. No.6:12-33.

Masaki Taniguchi, Tsuyochi Kato, Ryuichi Matsuno and Tadashi Kamikubo. 1983. Continous Cellulose Production by Cell - Holding Culture. Eur J. Appl. Microbio. Biotech. 18: 218-224.

McBeth, I.G. 1916. Studies on the Decomposition of Cellulose in Soil. Soil Sci. 1: 437-487.

MingZhong, Wo . 1989. Use of Sisal as Fiber Reinforcement in Rice Husk Ash Mortar. Master 's Thesis, Asian Institute of Technology.

Montenecount., B. S. and Douglas, E. E. 1985. Fungal Cabohydrases : Amylase and Cellulase . In J. W. Bennett and L. L. Lasure (eds.), Gene Manipulation in Fungi , pp. 491-512. New York: Academic press, Inc.

Mudgett, R.E. 1980. Controlled Gas Environments in Industrial Fermentation Enzyme Microb. Technol. 3:273-280.

Okafor, N. 1972. J. Sci.Food and Agri. 23:1399

Ooshima. H., Yoshuke. I. and Yoshio. H. 1985. Simultaneous Saccharification and Fementation of Cellulase: Effect of Ethanol on Enzymatic Saccharification of Cellulose. Biotechnol Bioeng. 27: 389-397.

Puls, J., Poutanen, K., Korner, H. u., and Biikari, L. 1985. Appl. Microbiol. Biotechnol. 22: 416.

Punnapayak. H. and Emert. G. H. 1986. Use of Pachysolen tannophilus in Simultaneuus Saccharification and Fermentation (SSF) of Lignocellulosic Biotechnol. Lett. 8(1): 63-66.

Reese, E. T., Ralph Sin , G. H. and Levinson, H. S. 1950. The Biological Degradation of Soluble Cellulose Deriviatives and Its Relationship to The Mechanism of Cellulose Hydrolysis. J.Bacteriol. 59: 485-497.

Savitree, L., Seki, T., Kinoshita, S., Taguchi, H,. and Kumnuanta, J. 1981. Production of Celluase by Thermophilic Fungus Isolated in Thailand. Microbial Utilization of Renewable Resources. JSPS-NRCT. Seminar on Agro-Industry Including Microbial Technology. 2:64-71.

Sasaki, T. 1982. Enzymatic Saccarification of Rice Hull Cellulose. JARQ. 16(2): 144-150.

Sasaki, H., Kamakata, Y., Takao, S., Matangkasombut, P., and Bhumiratana, A. 1983. Selection and Classification of Active Cellulose Decomposing Fungi. Microbial Utilization of Renewable Resources. JSPS-NRCT. Seminar on Agro-Industry Including Microbial Technology. 2: 65-76.

Shehata, A.M. El-Tabey. 1960. Appl. Microbiol. 8:73.

Shoemaker, S.P.,and Brown, R.G.,Jr. 1978a. Enzymatic Activities of Endo-1,4-B-D-glucanases Purified from Trichoderma viride. Biochem. Biophys. Acta 523: 133-146.

——— 1978b. Characterization of endo-1,4-B-D-glucanases Purified from Trichoderma viride. Biochim. Biophys. Acta 523: 147-161.

Spangler. D. J., and Emert. G. H. 1986. Simultaneous Saccharification Fermentation with Zymomonas mobilis. Biotechnol. Bioeng. 28: 115-11.

Szczodrak, J. 1988. The Enzymatic Hydrolysis and Fermentation of Pretreated Wheat Straw to Ethanol. Biotech. Bioeng. 32: 771-776.

——— and Targonski, Z. 1988. Selection of Thermotolerant Yeast Strains for Simultaneous Saccharification and Fermentation of Cellulose. Biotechnol.Bioeng. 31: 300-303.

Teacher, R.M., and Wood., P.J. 1982. Use of Congo Rad-Polysaccharide Interactions in Enumeration and Characterization of Cellulolytic Bacteria from the Bovine Rumen. App. Environ Microbiol. 43:770-780.

Thayer, D. W., and David, C.A. 1978. Growth Of "Seeded" Cellulolytic Enrichment Cultures on Mesquite Wood. App. Environ. Microbiol. 36:291-296.

Torrer, E. F., and Barati, T. 1987. The Effect of pH , Temperature and Sucrose Concentration on High Productivity Continuous Ethanol Fermentation Using Zymomonas mobilis. Appl Microbiol Biotechnol. 27:121-128.

Tsao, G.T. and Chiang, L. 1983. Cellulose and Hemicellulose Technology. In J. Smith, D. Bery, and B. Kristiansen (eds.), The Filamentous Fungi. Fungi Technology. 4: pp. 296-326. New York: John Wilet & sons Inc.

Ueda, S. 1980. Alcohol in Brazil. Microbial Utilization of Renewable Resources. 1: 216-223.

——— , Celia, T. Z., Domingos, A. M. , and Yong, K. P. 1981. Production of Ethanol from Raw Cassava Starch by a Nonconventional Fermentation Method. Biotechnol. Bioeng. 23: 291-299.

Underkofler, L.A., and Hickey, R.J. 1954. Industrial Fermentation, Chemical Publishing Co. Inc.

Waksman, S.A. 1932. Prinsple of Soil Microbiology, 897 p. Williams and Wilkins Co., Baltimare.

Walseth, C.S. 1952. Occurrence of Cellulose in Enzyme Preparations from Microorganisms. Tappi 35(5): 228-238.

Wayman, M., Rannads. S. P., and Sarad. R. P. 1987. Simultaneous Saccharification and Fermentation by Mixed Cultures of Brettanomyces clausenii and Pichia stipitis R. of SO_2 - Prehydrolysed Nood. Biotechnol. Lett. 9(6): 435-440.

Wilke, C. R., B. Maiorella., A. Sciamanna., K. Tangnu., D. Wiley. and H. Wong. 1983. Enzymatic Hydrolysis of Cellulose. Theory and Appications. pp. 1-15. U.S.A.: Noyes Data Corporation.

Wills, C. and Jornvall, H. 1979a. Eur. J. Biochem. 99:323-331.

Wood, T.M., 1972. Proc, IV IFS : Ferment. Technol. Today. 711-725, citing Wilke, C. R., B. Maiorella., A. Sciamanna., K. Tangnu., D. Wiley. and H. Wong. Enzymatic Hydrolysis of Cellulose. Theory and Appications. pp. 1-15. U.S.A.: Noyes Data Corporation, 1983.

_____ , and McCrae, S.I. 1975. Biotechnol. Bioeng. Symp. No. 5, 111, citing Wilke, C. R., B. Maiorella., A. Sciamanna., K. Tangnu., D. Wiley. and H. Wong. Enzymatic Hydrolysis of Cellulose. Theory and Appications. pp. 1-15. U.S.A.: Noyes Data Corporation, 1983.

Zabriskie, D. W., Qutabuddin, S. A. S. M., and Dowing, K. M. 1980. "Production of Ethanol from Cellulose Using a Soluble Cellulose Derivative as an Intermediate." Biotech. Bioeng. Symp. 10: 149-162.

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียม

1. Czapex' s dox medium (Mandel and Sternberg, 1976)

$(NH_4)_2SO_4$	1.4	กรัม
KH_2PO_4	2.0	"
Urea	0.3	"
$CaCl_2$	0.3	"
$MgSO_4$	0.3	"
$FeSO_4$	5.0	มิลลิกรัม
$MnSO_4$	1.6	"
$ZnSO_4$	1.4	"
$CoCl_2$	2.0	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ถ่ายใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มล. ให้มีปริมาตร 100 มล. ใส่กระดาษกรอง wathman No 1 ขนาด 2.0 x 10.0 ซม. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

2. Carboxymethylcellulose agar (Hankin and Anagnostakis, 1977)

$(NH_4)_2SO_4$	1.0	กรัม
Carboxylmethylcellulose	5.0	"
Yeast extract	1.0	"
Agar	10.0	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลาย Carboxymethylcellulose (CMC) ในน้ำอุ่น 500 มล. โดยใส่ CMC ทีละน้อยพร้อมๆ กับคนตลอดเวลา จนกระทั่งละลายหมด ละลายส่วนที่เหลือแล้วเติมน้ำให้ครบ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

3. Potato dextrose agar (PDA)

มันฝรั่ง	200	กรัม
น้ำตาล dextrose (glucose)	20	"
Agar	20	"
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ต้มมันฝรั่งที่หั่นเป็นชิ้นขนาดเท่าลูกเต๋าในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร ให้เดือดประมาณ 15 นาที กรองด้วยผ้าขาวบาง เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร ใส่ส่วนประกอบที่เหลือ คนจนละลายหมด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

4. Yeast malt agar (YMA)

Yeast extract	3.0	กรัม
Malt extract	3.0	"
Bact - peptone	5.0	"
Glucose	20.0	"
agar	20.0	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

5. Trytic soy agar (TSA)

Bacto - Tryptone	15.0	กรัม
Bacto - Soytone	5.0	"
NaCl	5.0	"
Agar	15.0	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

5.1 Trytic soy broth (TSB) ใช้ส่วนผสมเหมือนข้อ 5 ไม่ต้องเติม Agar

6. Detection medium (คำพูน และคณะ 2526)

Yeast extract	10.0	กรัม
KH_2PO_4	1.0	"
$(NH_4)_2SO_4$	1.0	"
$MgSO_4$	0.5	"
Glucose	50.0	"
Cyclohexamide	0.3	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับให้มี pH 4 ด้วยกรดไฮโดรคลอลิค 0.1 M. ถ่ายใส่หลอดทดลองที่ใส่หลอดเก็บก๊าซ (Durham tube) 1 หลอด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

หมายเหตุ Cyclohexamide ให้เติมหลังจากอบฆ่าเชื้อแล้ว

7. Fermentation medium (คำพูน และคณะ 2526)

Yeast extract	10.0	กรัม
KH_2PO_4	1.0	"
$(NH_4)_2SO_4$	1.0	"
$MgSO_4$	0.5	"
Glucose	200.0	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับให้มี pH 6.8 ด้วยกรดไฮโดรคลอลิค 0.1 M. ถ่ายใส่ฟลากส์ 250 มล. ให้มีปริมาตร 100 มล. นำไปึ่งอบฆ่าเชื้อ

8. WL. differential medium (คำพูน และคณะ 2526)

Yeast extract	4.0	กรัม
Bacto - casitone	5.0	"
Dextrose	50.0	"
Monopotassium phosphate	0.55	"
Potassium chloride	0.425	"
Calcium chloride	0.125	"
Ferric chloride	2.5	มิลลิกรัม
Manganese sulphate	2.5	"
Brom cresol green	22.0	"
Agar	20.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

9. Molasses medium (Kumnuanta , et al, 1981)

KH_2PO_4	0.5	"
$(NH_4)_2SO_4$	0.5	"
$MgSO_4$	0.5	"
Glucose	180.0	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

10. Basal medium (Szczodrak and Targonsiki, 1988)

Yeast extract	10.0	กรัม
$NaCl_2.2H_2O$	1.0	"
KH_2PO_4	2.0	"
$FeCl_3.6H_2O$	0.01	"
$MgSO_4.7H_2O$	1.7	"
NH_4Cl	2.0	"
$CaCl_2.2H_2O$	0.2	"
glucose	20.0	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับให้มี pH 5.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

10.1 fermentation medium ส่วนผสมเหมือนข้อ 10 แต่ใช้ glucose 140 กรัม

11. Production medium (หรรษา ปุณณพัคม์ 2532)

$MgSO_4$	1.0	กรัม
$CaHPO_4$	0.05	"
$(NH_4)_2SO_4$	4.0	"
Corns teep liquor	7.0	"
Microcrystalline Cellulose	3.0	"
Tween 80	2.0	มิลลิลิตร
$FeSO_4$	5.0	มิลลิกรัม
$ZnSO_4$	1.4	"
$MnSO_4$	1.6	"
$CoCl_2$	3.6	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับให้มี pH 5.5 ถ่ายใส่ลงฟลากส์ขนาด 250 มล. ให้มีปริมาตร 100 มล. ในกรณีที่ใช้ทดสอบการสร้างเอ็นไซม์เซลลูเลสของเชื้อราให้ใช้ Microcrystalline Cellulose เพียง 1 กรัม แต่ถ้าใช้ผลิตเอ็นเอ็นไซม์เซลลูเลสให้ใช้ Microcrystalline Cellulose 3 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

หมายเหตุ Microcrystalline Cellulose ไม่ละลายน้ำดังนั้นจึงต้องชั่งใส่ฟลากส์ก่อนแล้วจึงเติมสารอาหารลงไปให้ได้ปริมาตรที่ต้องการ

12. Mineral salt medium (Thayer and David, 1978)

NaCl	6.0	กรัม
NH_4Cl	2.0	"
KH_2PO_4	1.0	"
K_2HPO_4	1.0	"
$MgSO_4.7HO_2$	0.1	"
$CaCl_2$	0.1	"
กระดาษกรอง (wathman No 1)	8.0	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับให้มี pH 7.2 ถ่ายใส่ลงฟลากส์ขนาด 250 มล. ที่ใส่กระดาษกรองที่ตัดให้มีขนาด 1.0 x 1.0 ซม. ไว้แล้ว ให้มีปริมาตร 100 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

13. Enrichment medium (Chossen and Dupuy,1983)

NaCl	6.0	กรัม
NH_4Cl	2.0	"
KH_2PO_4	1.0	"
K_2HPO_4	1.0	"
$MgSO_4.7HO_2$	0.1	"
$CaCl_2$	0.1	"
กระดาษกรอง (wathman No 1)	8.0	"
Yeast extract	0.5	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับให้มี pH 7.2 ถ่ายใส่ลงฟลาสก์ขนาด 250 มล. ที่ใส่กระดาษกรองที่ตัดให้มีขนาด 1.0 x 1.0 ซม. ไว้แล้ว ให้มีปริมาตร 100 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

14. Peptone Yeast extract Agar (PYA)

Bacto peptone	10.0	กรัม
Yeast extract	10.0	"
Glucose	20.0	"
Agar	15.0	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น นำไปอบฆ่าเชื้อ

14.1 PYB ส่วนผสมเหมือนข้อ 14 ไม่ต้องเติม Agar

15 Potassium acetate medium

Potassium chloride	8.20	กรัม
Sodium acetate	1.80	"
Yeast extract	1.00	"
Glucose	0.50	"
Agar	15.0	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

หมายเหตุ อาหารทั้งหมดต้องนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 °C นาน 15 นาที

ภาคผนวก ข.

วิธีการเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมสารละลาย DNS (Dinitrosalicylic acid)

   1.1 เตรียมสารละลาย 10 % NaOH 22 มล. ใส่ลงในสารละลาย Phenol 10 กรัม เติมน้ำให้ครบ 100 มล. คนให้เข้ากัน เทแบ่งออกมา 96 มล. เติม $NaHSO_3$ 9.6 กรัม คนให้เข้ากัน

   1.2 เตรียมสารละลาย 1 % DNS 880 มล. และเตรียมสารละลาย Rochell salt 255 กรัม ด้วยสารละลาย 4.5 % NaOH 300 มล. จากนั้นนำมาเทรวมกับ 1 % DNS คนให้เข้ากัน

   1.3 นำสารละลายที่ได้จาก ข้อ 1.1 และ 1.2 มาเทรวมกันก็จะได้สารละลาย DNS สารละลายนี้ต้องใส่ไว้ในขวดสีชา แล้วนำไปใส่ไว้ในตู้เย็นก่อนอย่างน้อย 1 คืน จึงจะนำใช้ได้

2. การทำกราฟน้ำตาลมาตรฐาน

   2.1 เตรียมสารละลายน้ำตาลกูลโคสให้มีความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มก./มล. ด้วยน้ำกลั่น ใส่ลงในหลอดทดลอง

   2.2 เติมสารละลาย DNS ลงในน้ำตาลทุกหลอด ๆ ละ 3 มล. นำไปตั้งในน้ำเดือด นาน 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

   2.3 เติมน้ำกลั่นลงไปทุกหลอด ๆ ละ 10 มล.

   2.4 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่นแสง 550 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟ ระหว่างค่า OD กับปริมาณน้ำตาลกูลโคส

3. การวัดปริมาณเอ็นไซม์เซลลูเลสโดยวิธีการของ Mandel และคณะ (1976)

นำ crude enzyme ที่ได้จากการผลิต มา 0.5 มล. ใส่ลงในหลอดทดสอบที่บรรจุสารละลาย 1 % CMC 0.5 มล. เขย่าให้เข้ากัน นำไปอุ่นในเครื่อง water bath ที่อุณหภูมิ 50 °C นาน 30 นาที หยุดปฏิกริยาด้วยสารละลาย DNS reagent (ภาคผนวก ข.3) 3 มล. นำไปตั้งในน้ำเดือด นาน 5 นาที วางไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectronic ที่ความยาวคลื่นแสง 550 นาโนเมตร เทียบกับหลอดควบคุม (blank) ที่เตรียมโดย 0.05 M. critrate buffer แทน 1 % CMC จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเปรียบเทียบหาปริมาณน้ำตาลกลูโคส จากเส้นกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก ข.1) เพื่อนำไปคำนวนหาค่า unit of enzyme จากสูตรมาตรฐาน

4. การคำนวนหาปริมาณเอ็นไซม์เซลลูเลส ตามหลักการของ The International Union of Biochemistry

1 enzyme unit = 1 u mole ของ substrate ที่ถูก hydrolyse ใน 1 นาที
= 1 u mole ของกลูโคสที่ถูกปลดปล่อยออกมาใน 1 นาที
= 0.180 มิลลิกรัมกลูโคสที่ถูกปลดปล่อยออกมาใน 1 นาที

ถ้า 0.180 มิลลิกรัมกลูโคสที่ถูกปลดปล่อยออกมาใน 1 นาที มีค่า = 1 หน่วย
1.000 มิลลิกรัมกลูโคสที่ถูกปลดปล่อยออกมาใน 30 นาที มีค่า = 1 หน่วย

$$\text{มีค่า} = \frac{0.180 \times 30}{1.000} = 0.185$$

ถ้าปลดปล่อยกลูโคส X มิลลิกรัม ใน 30 นาที มีค่า = (0.185) x (X) หน่วย

จากการทดลองใช้เอ็นไซม์ 0.5 มิลลิลิตร = (0.185) x (มิลลิกรัมกลูโคส)

$$1.0 \text{ " } = \frac{(0.185) \times (\text{มิลลิกรัมกลูโคส})}{0.5}$$

$$= \frac{(0.185) \times (\text{มิลลิกรัมกลูโคส})}{\text{มิลลิลิตรเอ็นไซม์}} \text{ หน่วย/มล.}$$

5. การเตรียม 1 M. acetic acid

ตวงสารละลายกรดเข้มข้นของ acetic acid มา 60.22 มล. ใส่ลงในน้ำกลั่น 939.78 มล. คนให้เข้ากัน

6. การเตรียม 0.04 M. acetate buffer pH 5

ชั่ง sodium acetate มา 3.429 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำกลั่น 200 มล. แล้วเติมสารละลาย 1 M. acetic acid ลงไป 14.8 มล. เติมน้ำให้ครบ 1 ลิตร คนให้เข้ากัน

7. การเตรียม 1 M. HCl

ตวง HCl conc มา 97.33 มิลลิลิตร แล้วจึงเติมน้ำกลั่นลงไป 902.46 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน

8. การเตรียม 0.05 M. Citrate buffer pH 4.8

ชั่ง Sodium citrate 14.71 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นเล็กน้อย แล้วจึงเติม 1 M. HCl ลงไป 50 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน เติม 1 M. HCl ลงไปอีก 20 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร คนให้เข้ากัน

9. การหาเปอร์เซนต์ความชื้นของวัสดุหมัก

ชั่งตัวอย่างเพื่อหาน้ำหนักสด 10.0 กรัม โดยใส่ในจานเลี้ยงเชื้อที่ทราบน้ำหนักแห้ง นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 °C นาน 2 ชม. ตั้งไว้ให้เย็น นำมาชั่งด้วยเครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง เมื่อได้น้ำหนักแห้งแล้วนำไปเปรียบเทียบกับน้ำหนักก่อนอบ และน้ำหนักที่ลดลงคือ ค่าของความชื้น คำนวนเป็นเปอร์เซนต์ความชื้นได้ดังนี้

$$\text{เปอร์เซนต์ความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักสด} - \text{น้ำหนักแห้ง}) \times 100}{\text{น้ำหนักสด}} \quad \%$$

10. การคำนวนปริมาณแอลกอฮอล์

นำตัวอย่างแอลกอออล์มาวัดด้วยเครื่อง Gas liquid chromatography ผลที่ได้จะเป็นความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ มีหน่วยเป็นเปอร์เซนต์ คือมีปริมาณแอลกอฮอล์ X กรัม หรือ X x 1000 มก. ในสารละลาย 100 มล. ดังนั้นปริมาณแอลกอฮอล์ 1 มล จึงเท่ากับ

$$\frac{X \times 1}{100} \text{ ก./มล.} = \frac{X \times 1000}{100} \text{ มก./มล.}$$

ประวัติ

นายศิริพงศ์ เปรมจิต เกิดวันที่ 2 ธันวาคม 2502 จังหวัด ชลบุรี สำเร็จการศึกษาขั้นปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (ชีววิทยา) จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง ในปีการศึกษา 2528 ได้เข้าศึกษาระดับปริญญามหาบัณฑิต ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อเทอมปลายปี 2529 สำเร็จการศึกษาในปีการศึกษา 2533