รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ชนัญ ผลประไพ. สภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิต โพลีเบต้าไฮดรอกซีบิวทีเรต จาก *Alcaligenes* sp. สายพันธุ์ A-04 ในระดับถังหมัก. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2537.

อรอุษา สรวารี. ปฏิบัติการโพลีเมอร์ ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2530.

อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์. การตรวจลักษณะ และการสร้างโพลี-เบต้า-ไฮดรอกซีบิวทีเรต โดย *Alcaligenes eutrophus* sp. A-04. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2536.

อัญชนา ศุรติขจร. การสร้างโพลี (3-ไฮดรอกซีบิวทิเรท-โค-3-ไฮดรอกซีวาเลอเรท) โคโพลีเมอร์โดย *Alcaligenes eutrophus* sp. A-04. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2537.

ภาษาอังกฤษ

Akiyama, M., Taima, Y., and Doi, Y. Production of poly (3-hydroxyalkanoates) by a bacterium of the genus *Alcaligenes* utilizing long-chain fatty acids. Appl.Microbiol.Biotechnol. 37(1992): 698-701.

Anderson, A.J., and Dawes, E.A. Occurence,metabolism,metabolic role., and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. Microbiol.Rev Dec(1990): 450- 472.

Asselineau, Jean."3-D-Hydroxybutyric acid and Poly-ß-hydroxybutyrate" in The Bacterial lipids, ed.France. (Hermann,1966) p.107-109.

Beaulieu, M., Beaulieu, Y., Melinard, J., Pandian, S., and Goulet, J. Influence of ammonium salts and cane molasses on growth of

Alcaligenes eutrophus and production of polyhydroxybutyrate. Appl.Environ.Microbiol. 61(1995): 165-169.

Berger,E., Ramsay,B.A., Ramsay,J.A., Chavarie, C., and Braunegg, G. PHB recovery by hypochlorite digestion of non-PHB biomass. Biotechnol.Techn. 3(1989): 227-232.

Bernfeld, F. Amylase α and β. In Colowich,P.S. and Kaplan,O.N. (eds), Method in Enzymology,p.149. London: Academic Press ,1955.

Bitar, A., and Underhill, S. Effect of ammonium supplementation on production of poly-β-hydroxybutyric acid by *Alcaligenes eutrophus* in batch culture. Biotechnology Letters. 8(1990): 563-568.

Bourque, D., Ouellette, B., Andre, G., and Groleau, D. Production of poly-β-hydroxybutyrate from methanol: characterization of a new isolate of *Methylobacterium extorquens*. Appl.Microbiol. Biotechnol. 37(1992) : 7-12.

Brandl, H., Gross, R.A., R.W., and Fuller, C. Plastics from bacteria and for bacteria: poly (β-hydroxyalkanoates) as natural, bio compatible and biodegradable polyesters. Adv.In Biochem.Eng/ Biotech. 41(1990): 77-93.

Brandl, H., Gross, R.A., Lenz.R.W., and Fuller, R.C. *Pseudomonas oleovorans* as a source of poly (β-Hydroxyalkanoates) for potential applications as biodegradable polyesters. Appl. Environ.Microbiol. 54(1988): 1977-82.

Braunegg, G., Sonleitner, B., and Lafferty, R.M. A rapid gas chromato graphic method for the determination of poly-3-hydroxybutyric acid in microbial biomass. Eur.J.Appl.Micro.Biol. 6 (1978): 29-37.

Brivonese, C.A., and Sutherland, I.W. Polymer production by a mucoid strain of *Azotobacter vinelandii* in batch culture. Appl.Microbiol.Biotechnol. 30(1989): 97-102.

Byrom, D. Polymer synthesis by microorganisms:technology and economic Tibtech. 5(1987): 246-250.

Comeau, Y., Hall, K.J., and Oldham, W.K. Determination of poly-β-hydroxybutyrate and poly-β-hydroxyvalerate in activated sludge by gas-liquid chromatography. Appl.Environ.Microbiol. 54(1988): 2325-2327.

Daniel, M., Choi, J.H., Kim, J.H., and Kebeault, J.M. Effect of nutrient deficiency on accumulation and relative molecular weight of poly-β-hydroxybutyric acid by methylotrophic bacterium, *Pseudomonas* 135 . Appl.Microbiol.Biotechnol. 37 (1992): 702-706.

Dawes, E.A., and Senior, P.J. The role and regulation of energy reserve polymers in microorganisms. Adv.Microb.Physiol. 10 (1973): 135-266.

Degelau, A., Scheper, T., Bailey, JE., and Guske, C. Fluorometric measurement of poly-beta-hydroxybutyrate in *Alcaligenes eutrophus* by flow-cytometry and spectrofluormetry. App.Microbiol.Biotech. 42 (1995): 653-657.

Doi,Y. Microbial poly(3-hydroxybutyrate). Microbial Polyesters, p.2. USA: VCH Publishers Inc, 1990.

_____, Kunioka, M., Nakamura, Y., and Soga, K. ^{1}H and ^{13}C NMR analysis of poly (β-hydroxybutyrate) isolated from *Bacillus megaterium*. Macromolecules. 19(1986): 1274-1276.

_____. Kunioka, M., Nakamura, Y., and Soga, K. Nuclear Magnetic Resonance studies on poly (β-hydroxybutyrate) and a polyester

of β-hydroxybutyrate and β-hydroxyvalerate from *Alcaligenes eutrophus* H 16. Macromolecules. 19(1986): 2860-2864.

_____. Kunioka, M., Nakamura, Y., and Soga, K. Nuclear Magnetic Resonance studies on unusual bacterial copolyester of 3-hydroxybutyrate and 4-hydroxybutyrate. Macromolecules (1988): 2722-2727.

_____. and Abe,H. Synthesis and characterization of poly ((R,S)-3-hydroxybutyrate-b-6-hydroxyhexanoate)) as a compatibilizer for a biodegrable blend of poly((R)-3-hydroxybutyrate)) and poly(6-hydroxyhexanoate)). Macromolecules. 27 (1994): 6012-6017.

Ellar,D., Lundgren,D.G., Okamura,K., and Marchessault,R.H. Morphology of poly-β-hydroxybutyrate granules. J.Mol.Biol. 35(1968): 489-502.

Evan, D.J., and Sikda, K.S. Biodegradable plastic. Chemtech. 5 (1990) : 38-42.

Forsyth, W.G.C., Hayward, A.C., and Roberts, J.B. Occurence of poly-β-hydroxybutyric acid in aerobic gram-negative bacteria. Nature. 182 (1958): 800-801.

Findlay, R.H., and White, D.C. Polymeric Beta-Hydroxyalkanoates From Environmental Samples and *Bacillus megaterium*. Appl.Environ. Microbiol. 45(1983): 71-78.

Gatenholm, P., Kubat, J., and Mathiasson, A. Biodegrable natural composites. J.of Appl.Polym.Sci. 45(1992): 1667-1677.

Griffin, M., and Magor, A.M. Plastics and synthetic fibres from microorganisms: a dream or potential reality. Microbiol.Sci. 4(1987): 357-361.

Hahn,S.K.,Chang,Y.K., and Lee,S.Y. Recovery and characterization of poly(3-hydroxybutyrate acid) synthesized in *A.eutrophus* and recombinant *E.coli*. Appl.Environ.Microbiol. 61(1995): 34-39.

Harper,D.J., and Mc Kellar, J.F. Sensitised photodegradation of poly propylene. Chem.Ind. (1972): 848.

Haywood, A.C. Poly-β-hydroxybutyrate inclusions in the classification of aerobic gram-negative bacteria. Proc.Soc.Gen.Microbiol. 56 (1958): ii-iii.

Haywood, G.W., Anderson A.J., and Dawes, E.A. A survey of the accumulation of novel polyhydroxyalkanoates by bacteria. Biotechnol.Lett. 11(1989): 471-476.

Heinzle, E., and Lafferty, R.M. A kinetic model for growth and synthesis of poly-β-hydroxybutyric acid (PHB) in *Alcaligenes eutrophus* H16. European.J.Appl.Microbiol.Biotechnol. 11(1980) : 8-16.

Holmes, P.A. Applications of PHB-a microbially produced biodegradable thermoplastic. Phys.technol. 16(1985): 32-36.

Huffman, G.L., and Keller, D.J. Polymers and Ecological Problems In Guillet, J(ed), The plastic issue,p.155. London:Plemun, 1973.

Huisman G.W., Leeuw O.D., Eggink G., and Witholt B. Synthesis of poly -β-Hydroxyalkanoates is a common feature of fluorescent *Pseudomonads*. Appl.Environ.Microbiol. 55(1989): 1949-1954.

Juni, E., and Heym, G.A. A cyclic pathway for the bacterial dissimilation of 2,3-butanediol, acetylmethylcarbinol, and diacetyl. I General aspects of the 2,3-butanediol cycle. J.Bacteriol. 71(1956): 425-432.

Juttner, R.R., Lafferty, R.M., and Knackmuss, H.J. A simple method for the determination of poly-β-hydroxybutyric acid in microbial biomass. Euro.J.Appl.Microbiol. 1(1975): 233-237.

Kempers, A.J. Determination of sub-microquantities of ammonium and nitrates in soils with phenol, sodium nitroprusside and hypo chlorite. Geoderma. 12(1974): 201-206.

King,PP. Biotechnology,and industrial view. J.Chem.Technol.Biotechnol 32(1982): 2-8.

Kim,B.S., Lee,S.Y., and Chang,H.N. Production of poly-β-hydroxybuty rate by fed-batch culture of recombinant *E.coli*. Biotechnol. lett. 14(1992): 811-816.

Kominek, L.A., and Halvorson, H.O. Metabolism of poly-β-hydroxybuty rate and acetoin in *Bacillus cereus*. J.of Bacteriol. 90 (1965): 1251-1259.

Kofronova, O., Ptackkova, L., and Chaloupka, J. Poly (3-hydroxybuty rate) granules of *Bacillus megaterium* . Folia.Microbiol. 39 (1994) : 166-167

Slepecky, R.A., and Law, J.H. Assay of poly-β-hydroxybutyric acid. J.Bacteriol. 82(1961): 33-36.

_____, and Slepecky, R.A. Synthesis and Degradation of poly-β-hydroxybutyric acid in connection with sporulation of *Bacillus megaterium*. J.bacteriol. 82(1961): 37-42.

Leaversuch, R. Industry weights need to make polymers biodegrable. Mod.Plast. 64 (1987): 52-55.

Lee, IY., Nam, SW., Choi, ES., Chang, HN., and Park,YH. Production of poly-β-hydroxybutyrate and measurement of related enzyme

activities in *Alcaligenes eutrophus*. J.of Ferment Bioeng. 76 (1993): 416-418.

Lee, SY., and Chang,HN. High cell density cultivation of *E.coli* W using sucrose as a carbon source. Biotechnol lett. 15(1993): 971-974.

_____,Lee., YK.,and Chang, HN. Stimulatory effects of amino acids and oleic acid on poly (3-hydroxybutyric acid) synthesis by recombinant *Escherichia coli*. J.of Ferment.Bioeng. 79(1994): 177-180.

Lemoigne, M. Products of dehydration and of polymerization of β-hydroxybutyric acid. Bull.Soc.Chem.Biol. 8(1926): 770-782.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall,R.J. Protein measurment with Folin Phenol Reagent. J.Biol.Chem. 193(1951): 265-275.

Lundgren, D.G., Alper, R., Schnaitman, C., and Marchessault, R.H. Characterization of poly-β-hydroxybutyrate extracted from different bacteria. J.of Bacteriol. 89(1965): 245-251.

Macrae, R.M., and Wilkinson, J.F. Poly-β-hydroxybutyrate metabolism in washed suspensions of *Bacillus cereus* and *Bacillus megaterium*. J.Gen.Microbiol. 19(1958): 210-222.

Martineztoledo, MV., Gonzalezlopez, J., Rodelas, B., Pozo, C., and Salmeron, V. Production of poly-β-hydroxybutyrate by *Azoto bacter chroococcum* H 23 in chemically-defined medium and alpectin medium. J.of Appl Bacteriol. 78(1995): 413-418.

Merrick, J.M., M.Doudoroff. Enzymatic synthesis of Poly-β-hydroxy butyric acid in bacteria. Nature(London). 189(1961):890-892.

Middelberg, A.P.J., Lee,S.Y., Martin,J.,Williams,D.R.G, and Chang,HN. Size analysis of poly (3-hydroxybutyric acid) granules produced in recombinant *E.coli*. Biotechnol.lett. 17(1995): 205-210.

Nakata, H.M. Effect of pH on Intermediates produced during growth and sporulation of *Bacillus cereus*. J.of Bacteriol. 86 (1963): 577-580.

Odham, G., Tunlid, A., Westerdahl, G., and Marden, P. Combined deter mination of poly-β-hydroxyalkanoic acid and cellular fatty acids in starved marine bacteria and sewage by gas chromato graphy with flame ionization or mass spectrometry detection. Appl.Environ.Microbiol. 52(1986): 905-910.

Oeding,V., and Schlegel, H.G. β-ketothiolase from *Hydrogenomonas eutropha* H 16 and its significance in the regulation of poly-β-hydroxybutyrate metabolism. Biochem.J. 134(1973): 239-248.

Ostle, A.G., Holt, J.G. Nile Blue A as a fluorescent stain for poly-β-hydroxybutyrate. Appl.Environ.Microbiol. 44(1982): 238-241.

Owen, A.J., and Heinzel, J. Crystallization and melting behavior of PHB and PHB/HV copolymer. Polymer. 33(1992): 1563-1567.

Page, J.W. Production of poly-β-hydroxybutyrate by *Azotobacter vieilandii* UWD during growth on molasses and other complex carbon sources. Appl.Microbiol.Biotechnol. 31(1989): 329-333.

_____. Production of Poly-β-hydroxybutyrate by *Azotobacter vinelandii* UWD in media containing sugars and complex nitrogen sources. Appl.Microbiol.Biotech. 38(1992): 117-1

_____. Suitability of commercial beet molasses fractions as substrates for polyhydroxyalkanoate production by *Azotobacter vinelandii* UWD. Biotech.lett. 14(1992): 385-390.

_____. and Cornish, A. Growth of *Azotobacter vinelandii* UWD. Appl.Environ.Microbiol. 59(1993): 4236-4244.

Peter, S.A. Sneath. Endospore forming gram positive rods and cocci.In Peter, S.A. Sneath (eds), Bergey 's mannual of systematic bacteriology, p.1104-1129. Baltimore: William and Wilkins, 1984.

Purushothaman, D., and Vijila, K. Accumulation of proline and poly-β-hydroxybutyrate in high temperature-resistant strains of *Azospirillum*. Curr.Sci. 58(1989): 1047-1048.

Ramsay, B.A., Ramsay, J.A., and Cooper, D.G. Production of poly-β-hydroxyalkanoic acid by *Pseudomonas cepacia*. Appl. Environ. Microbiol. 55(1989): 584-589.

_____. Savacovan, I., Ramsay, J.A., and Marchessault, R. Continuous production of long-side-chain poly-β-hydroxy alkanoates by *Pseudomonas oleovorans*. Appl.Environ.Microbiol. 57(1991): 625-629.

_____. Lomaliza, K., Chavarie, C., Dube, B., Bataille, P., and Ramsay, J.A. Production of poly (beta-hydroxybutyric-co-beta-hydroxyvaleric) acids. Appl.Environ.Microbiol. 56 (1990) : 2093-2098.

Rees, GN., Vasiliadis, G., May, JW., and Bayly, RC. Production of poly-β-hydroxybutyrate in *Acinetobacter spp.* isolated from activated sludge. Appl Microbiol Biotechnol. 38(1993): 734-737.

Repaske, R., and Repaske, A.C. Quantitative requirment for exponential growth of *Alcaligenes eutrophus*. Appl.Environ.Microbiol. 32(1976): 585-591.

Saito, Y., Doi, Y. Microbial Synthesis and Properties of Poly (3-Hydroxybutyrate-Co-4-Hydroxybutyrate) in *Comamonas acidovorans*. Int.J.of Biol.Macro. 16(1994): 99-104.

Schlegel, H.G., Gottschalk, G., and Bartha, R. Formation and utilization of PHB by Knallgas bacteria. Nature. 191(1961): 463-465.

Steinbuchel, A., Debzi, E.M., Marchessault, R.H., and Timm, A. Synthesis and production of poly (3-hydroxyvaleric acid) homo polyester by *Chromobacterium violaceum*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 39(1993): 443-449.

Scholz, C., Fuller, R.C., and Lenz, R. Growth behavior of *Bacillus thuringiensis* and production of poly (3-hydroxyalkanoates) on different organic substrates. Polymer Bulletin. 34 (1995) : 577-584.

Stevenson, L.H., and Socolofsky, M.D. Cyst formation and poly-β-hydroxybutyric acid accumulation in *Azotobacter*. J.Bacteriol. 91(1966): 304-310.

Siddiqui, P.J.A., Bergman, B., Bjorkman, P.O., and Carpenter, E.J. Ultrastructural and chemical assessment of poly-β-hydroxy butyric acid in the marine cyanobacterium *Trichodesmium thiebautii*. FEMS.Microbiol.Lett. 94(1992): 143-148.

Smibert, R.M., and Krieg, N.R. General characterization. in Manual of methods for general bacteriology, ed. Gerhardt, P. (American Society for Microbiology,1981) p.421-422.

Somogyi, M., and Nelson, N. Notes on sugar determination. J.Biol,Chem 164(1951): 19-23.

Stanbury, P., and Whitaker, A. " Media for industrial fermentations in" Principles of fermentation technology,(Pergamon press, 1984) p.79-80.

Stockdale, H., Ribbons, D.W., and Dawes, E.A. Occurence of poly-β-hydroxybutyrate in the *Azotobacteriaceae*. J.Bacteriol. 95 (1968): 1798-1803.

Suzuki, T., Yamane, T., and Shimizu, S. Mass Production of poly-β-hydroxybutyric acid by fully automaic fed-batch culture of *methylotroph*. Appl.Microbiol.Biotechnol. 23(1986): 322-329.

Suzuki, T., Deguchi, H., Yamane, T., Shimizu, S., and Gekko, K. Control of molecular weight of poly-β-hydroxybutyric acid produced in fed-batch culture of *Protomonas extorquens*. Appl. Microbiol.Biotechnol. 27(1988): 487-491.

Taylor, IJ., and Anthony,C. Acetyl-CoA production and utilization during growth of the facultative methylotroph *Pseudomonas* AM 1 on ethanol, malonate and 3-hydroxybutyrate. J.Gen.Micro biol. 95(1976): 134-145.

Tinelli, R. Etude de la biochimie de la sporulation chez *Bacillus megaterium*.I. Composition des spores obtenues par carence des defferents substrats carbones. Ann.inst.Pasteur. 88 (1955) : 212-226, citing Dawes, E.A., and Senior, P.J. The role and regulation of energy reserve polymers in microorganisms. Adv.Microb.Physiol. 10(1973): 135-266.

Vignolo, G.M., Kairuz, M.N.de., Holgado, A.A.P.de.R., and Oliver, G. Influence of growth conditions on the production of lactocin 705, a bacteriocin produced by *Lactobacillus casei* CRL 705. J.of Appl.Bacteriol. 78(1995): 5-10.

Volva, T.G., Kalacheva, G.S., Puzyr, A.P., and Konstantinova, V.M. Influence of growth conditions on accumulation of polyhydroxy butyrate by hydrogen bacteria. Appl.Biochem.Micro. 29(1993): 170-176.

Williamson, D.H., Wilkinson, J.F. The isolation and estimation of the poly-β-hydroxybutyrate inclusions of *Bacillus* species. J.Gen. Microbiol. 19(1958): 198-209.

Wakisaka, Y., Masaki, E., Nishimoto, Y. Formation of crystalline -endotoxin or poly-β-hydroxybutyric acid granules by asporogenous mutants of *Bacillus thuringiensis*. Appl.Environ. Microbiol. 1982(43): 1473-1480.

Wallen, L.L., Rohwedder, W.K. Poly-β-hydroxyalkanoate from activated sludge. Env.Sci.Technol. 8(1974): 576-579.

Yamane, T. Yield of poly-D(-)-3-hydroxybutyrate from various carbon sources: a theoretical study. Biotech.Bioeng. 41(1993) :165-170.

Zhang, H., Obias, V., Gonyer, K., and Dennid, D. Production of polyhydroxyalkanoates in sucrose-utilizing recombinant *Escherichia coli* and *Klebsiella* strains. Appl.Environ. Microbiol. 60(1994) : 1198-1205.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

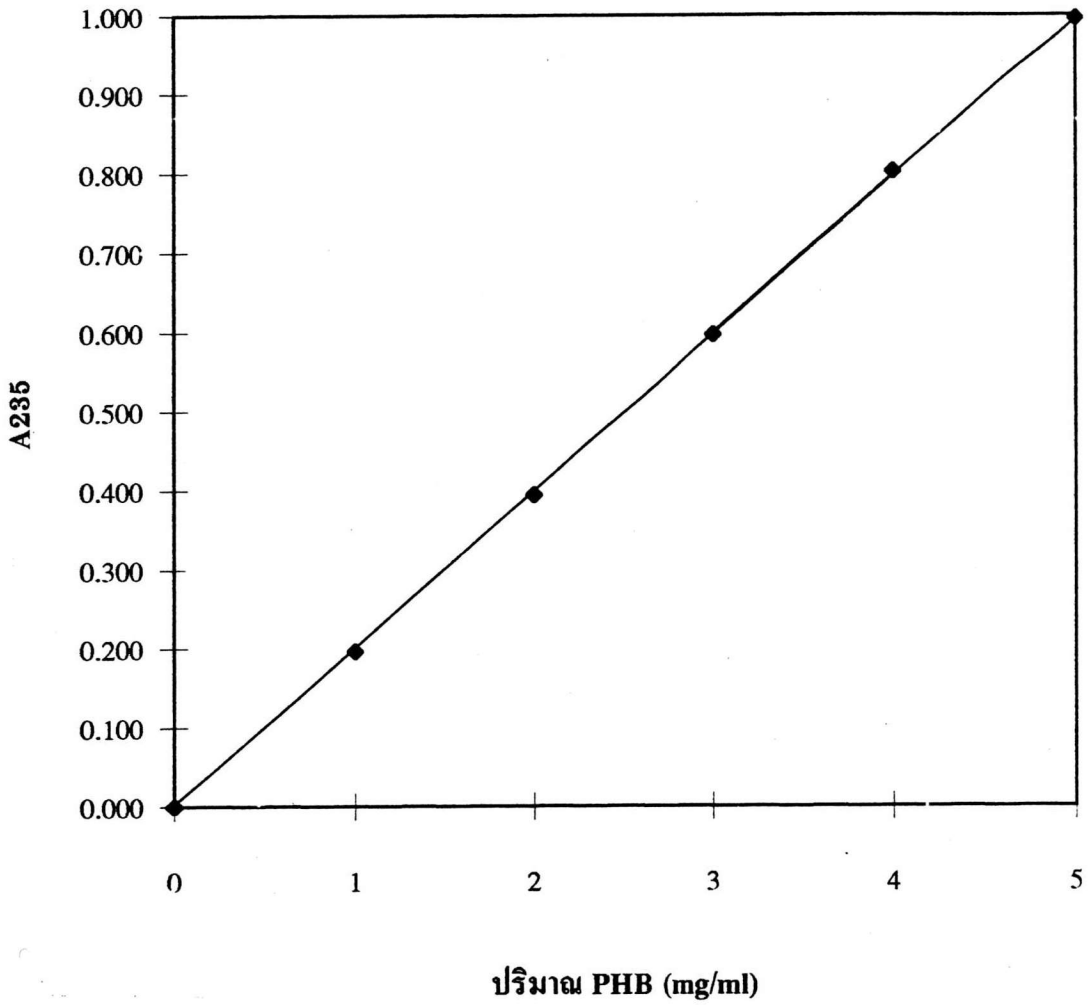
1. การย้อม PHB ด้วยสีซูดานแบล็กบี (Sudan Black B)

หยดสีซูดานแบล็กบี ปริมาณ 0.3 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) บนสไลด์ที่ได้ทำการเสมียร์ (smear) เชื้อแบคทีเรีย และ ฟิกซ์ (fix) ด้วยความร้อนแล้วเป็นเวลา 15 นาที ล้างสีด้วยไซลีน (xylene)และซับให้แห้ง ย้อมทับ(counterstain) ด้วย สีซาฟานินโอ (safranin O) ปริมาณ 0.5 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นเวลา 1 นาที ล้างสีด้วยน้ำ ซับให้แห้ง ตรวจการพบ PHB ด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดย PHB ติดสีดำของสีซูดานแบล็ก บี และ บริเวณที่เป็นไซโตพลาสซึมของเซลล์ ติดสีแดง ของสีซาฟรานินโอ

2.TGE (Tryptone glucose beef extract agar)

สารสกัดจากเนื้อ	3	กรัม
ทริปโตน	5	กรัม
เด็กซ์โทรส	1	กรัม
อะการ์	15	กรัม

ละลายสารให้เข้ากันโดยการต้มให้เดือดในน้ำกลั่น 1 ลิตรและนึ่งฆ่าเชื้อมาตรฐาน

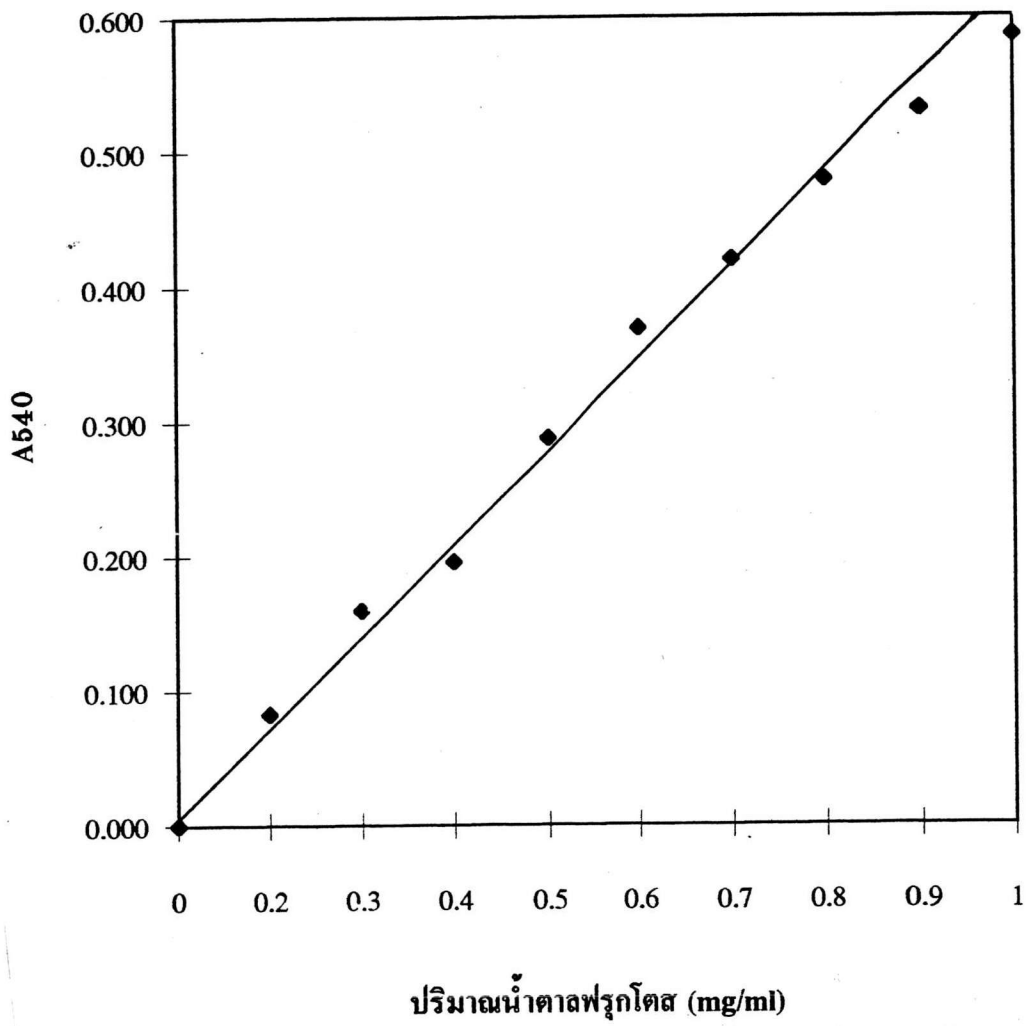


ภาคผนวกที่ 3 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณ PHB

(ความชัน เท่ากับ 0.198)

4. วิธีเตรียมสารละลายไดโนโตรซาลิไซลิกรีเอเจนต์

เตรียมโดยละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก 1 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาณ 20 มล. เติมโซเดียมโปแตสเซียมตาร์เตรท 30 กรัม แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล. ผสมให้เข้ากัน บรรจุในขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง



ภาคผนวกที่ 5 กราฟมาตรฐานสำหรับหาน้ำตาลรีดิวซ์(น้ำตาลฟรุคโตส)
โดยวิธีของ Bernfeld (1955)
(ความชัน เท่ากับ $5x10^{-4}$)

6. วิธีเตรียมสารสำหรับวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส

6.1 อัลคาไลน์ คอปเปอร์ รีเอเจนท์ (Alkaline Copper reagent) ประกอบด้วย

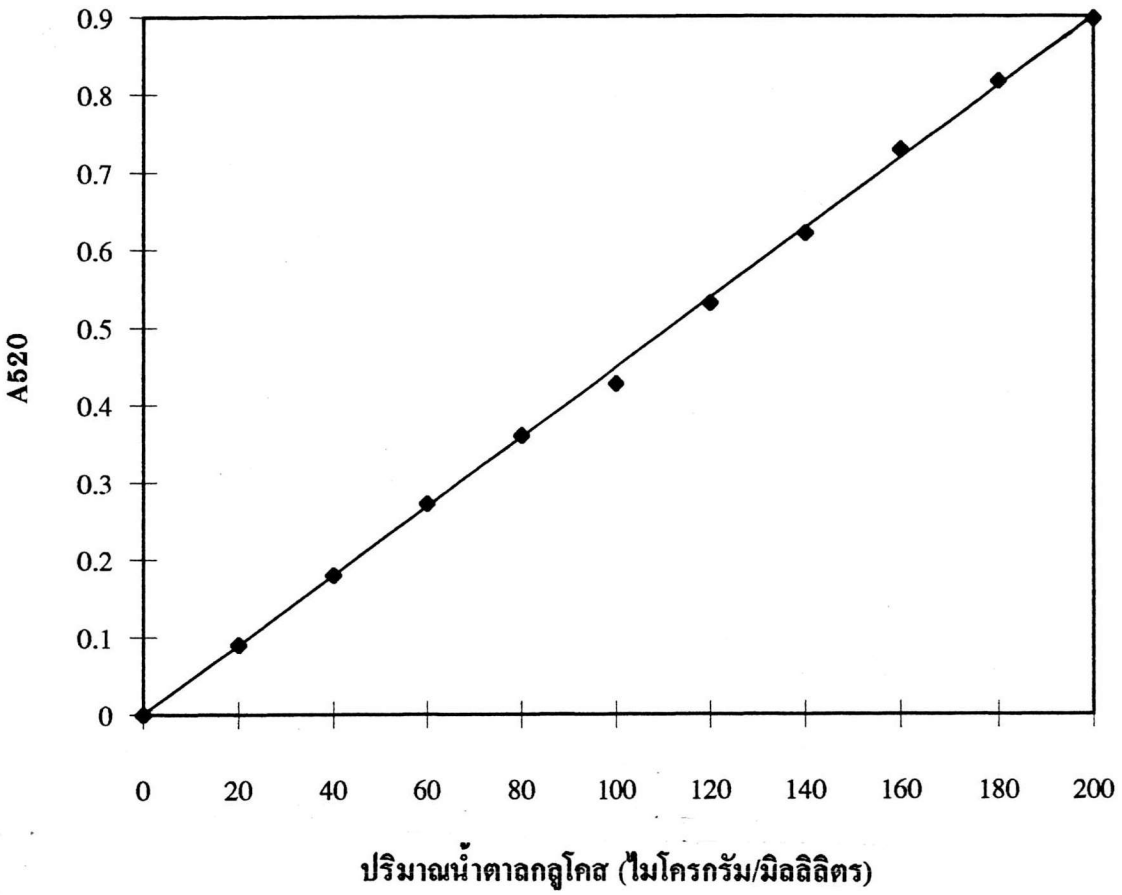
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($Na_2HPO_4.12H_2O$)	71	กรัม
โรเชล ซอลท์ (Rochelle Salt)	40	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	100	กรัม
คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$) 10 เปอร์เซนต์	80	มล.
โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4)	180	กรัม

ละลายสาร 2 ชนิดแรกให้เข้ากันในน้ำกลั่น ปริมาตร 700 มล. ก่อนเติมสารชนิดอื่น ลงไป จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิห้อง ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน แล้วจึงนำมากรองตะกอนออก ก่อนใช้

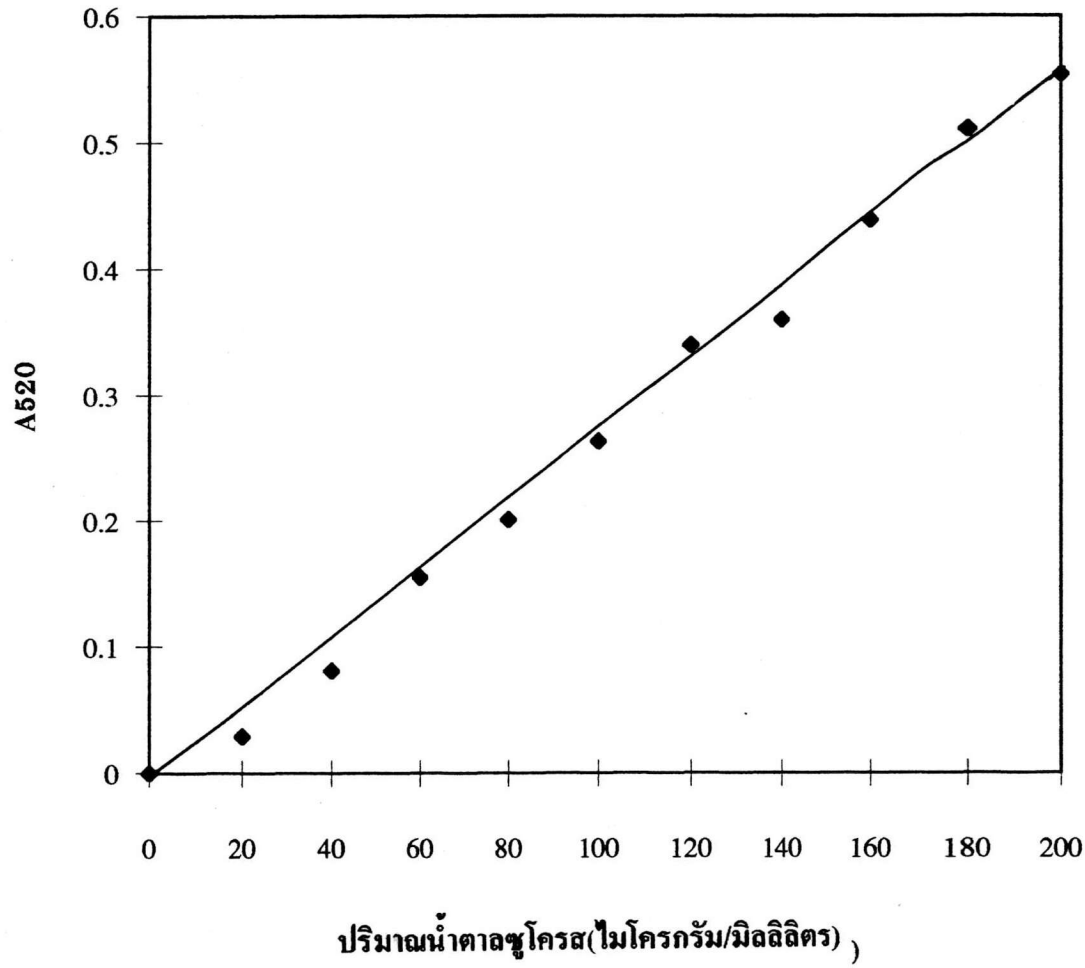
6.2 เนลสัน รีเอเจนท์ (Nelson reagent) ประกอบด้วย

แอมโมเนียมโมลิบเดท ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$) 53.2 กรัม ในน้ำ	900	มล.
กรดซัลฟูริคเข้มข้น (conc.H_2SO_4)	21	มล.
โซเดียมอาซีเนต ($NaHAsO_4.7H_2O$) 12 เปอร์เซนต์	50	มล.

ผสมส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิห้อง ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน แล้วจึงนำมากรองตะกอนออกก่อนใช้



ภาคผนวกที่ 7 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(น้ำตาลกลูโคส) โดยวิธีของ Somogyi และ Nelson (1951) (ความชัน เท่ากับ 5.77×10^{-4})



ภาคผนวกที่ 8 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำตาลซูโครส ที่ผ่านการย่อยด้วยกรด ได้เป็น น้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี Arsenomolybdate ของ Somogyi และ Nelson (1951)
(ความชัน เท่ากับ 3.8×10^{-3})

9. การเตรียมสารละลาย Lowry C และ Lowry D

สารละลาย Lowry C เตรียมจากการผสมสารละลาย Lowry A และ Lowry B ในอัตราส่วน 50 ต่อ 1 โดย

สารละลาย Lowry A ประกอบด้วย

โซเดียมคาร์บอเนต	20	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์	4	กรัม
โซเดียมโปแตสเซียมตาร์เตท	0.2	กรัม

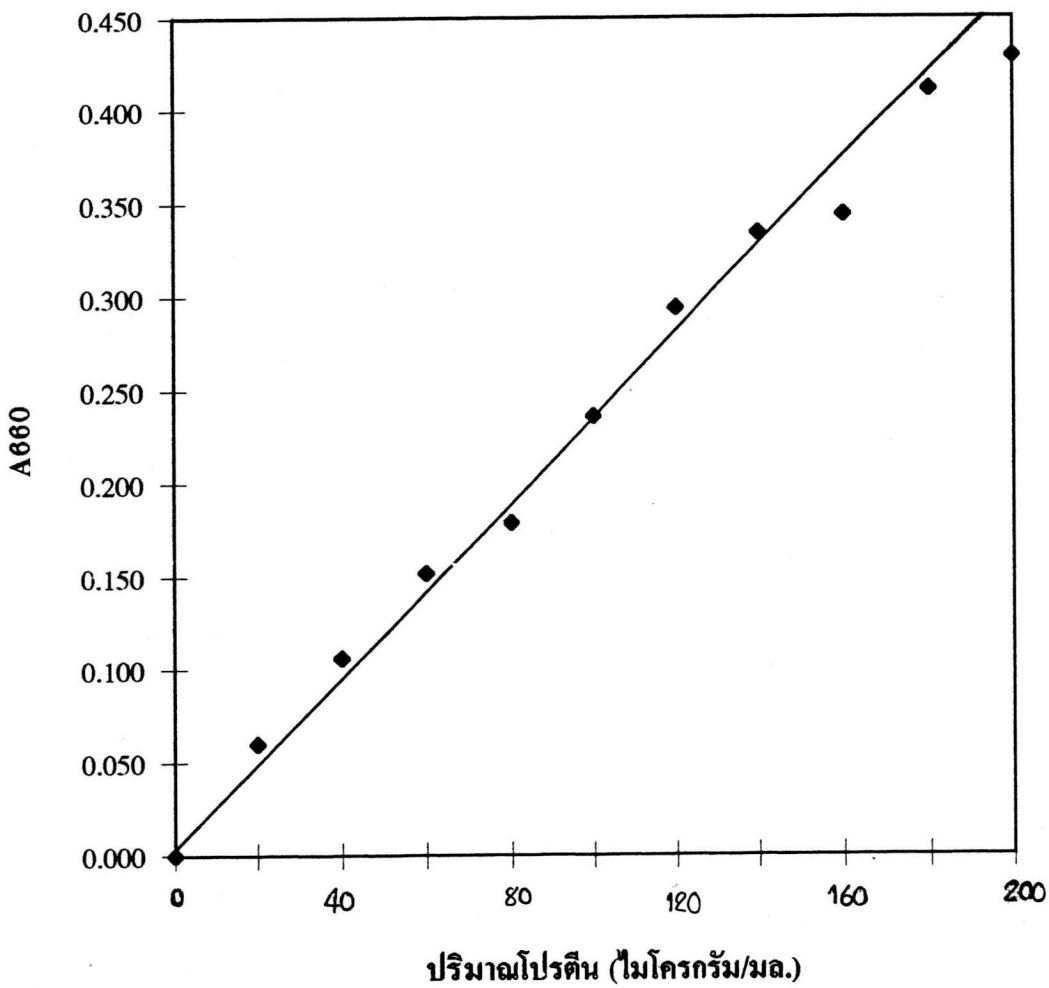
ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร

สารละลาย Lowry B ประกอบด้วย

คอบเปอร์ซัลเฟต	0.5	กรัม

ละลายในน้ำกลั่น 100 มล.

สารละลาย Lowry D เตรียมจากการผสมสารละลาย ฟีนอลรีเอเจนท์ และน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:1 โดยเตรียมเมื่อจะใช้



ภาคผนวกที่ 10 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณโปรตีน

(ความชัน เท่ากับ 2.37×10^{-3})

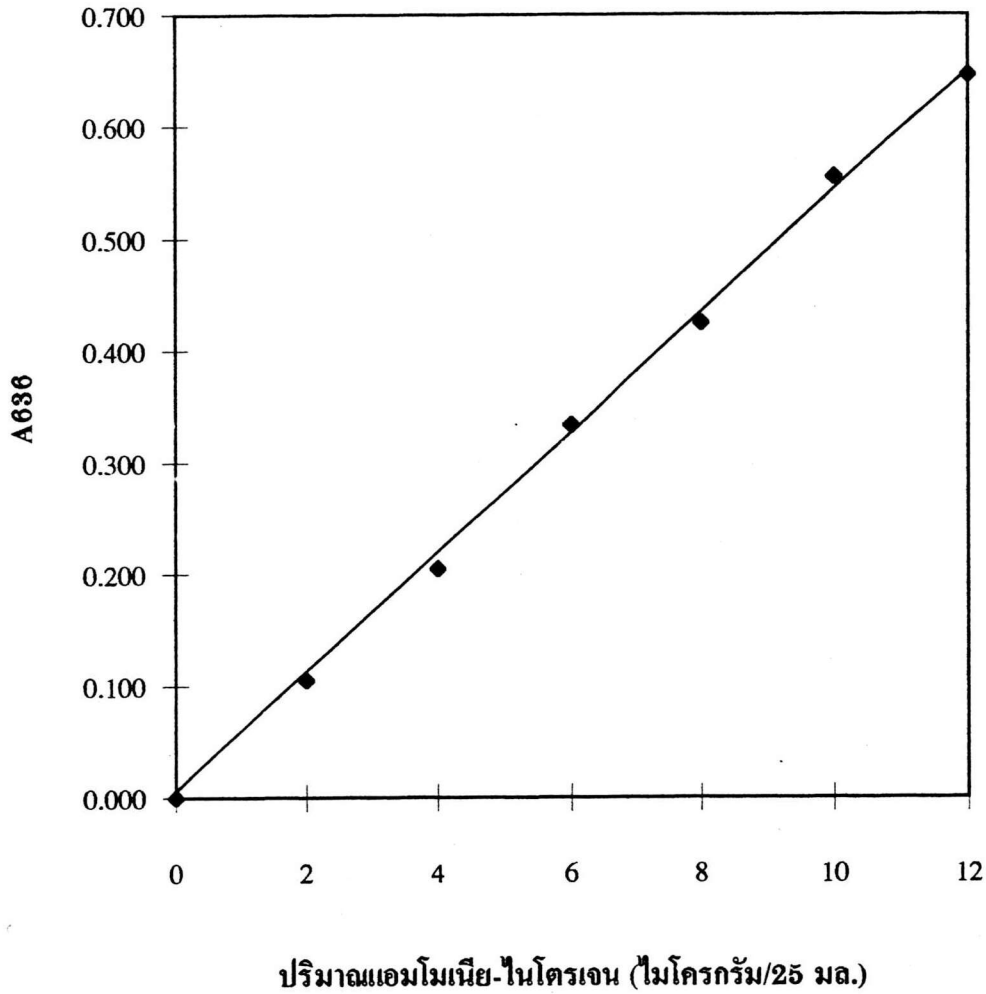
11. การเตรียมสารละลายที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียม

โปแตสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ เตรียมจากละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ปริมาณ 150 กรัมในน้ำกลั่นปลอดประจุปริมาณ 800 มล. ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

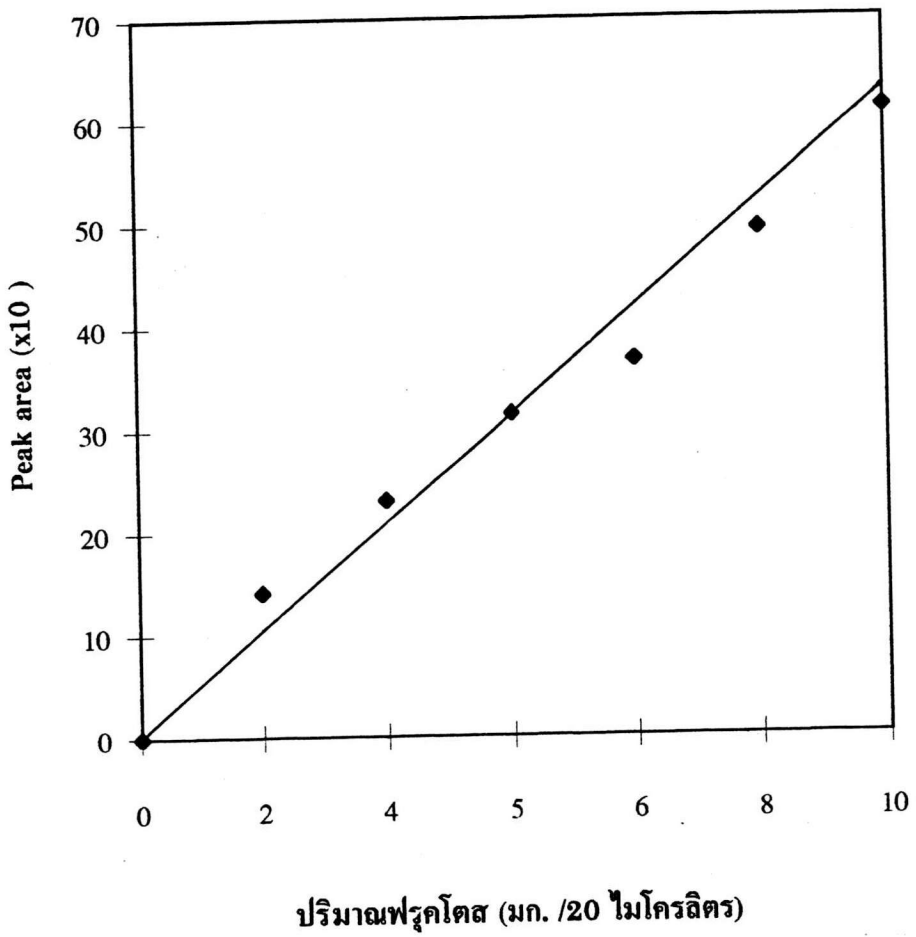
ฟีนอลไนโตรฟัสซายด์รีเอเจนต์ เตรียมจากละลายฟีนอลปริมาณ 7 กรัม และโซเดียมไนโตรฟัสซายด์ปริมาณ 34 มก. ในน้ำกลั่นปลอดประจุปริมาณ 80 มล.ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล. เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

บัฟเฟอร์ไฮโปคลอไรท์รีเอเจนท์ เตรียมจากละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 1.480 กรัมในน้ำกลั่นปลอดประจุปริมาณ 70 มล. แล้วเติมไดโซเดียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณ 4.98 กรัมและโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (5 - 5.25 %) ปริมาณ 20 มล. ปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 11.4-12.2 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 100 มล.

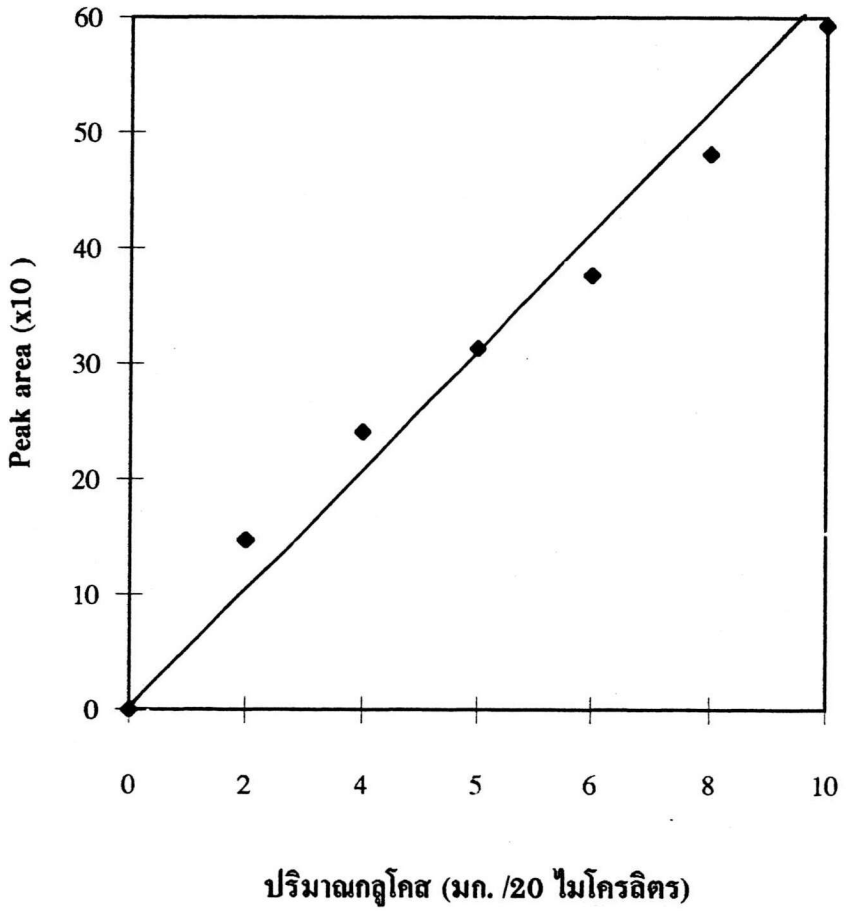
สารละลาย EDTA เตรียมจากละลายอีดีทีเอไดโซเดียมซอลท์ (EDTA disodiumsalt) ปริมาณ 6 กรัม ในน้ำกลั่นปลอดประจุปริมาณ 80 มล. แล้วปรับค่าพีเอชให้เป็น 7.0 ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล.



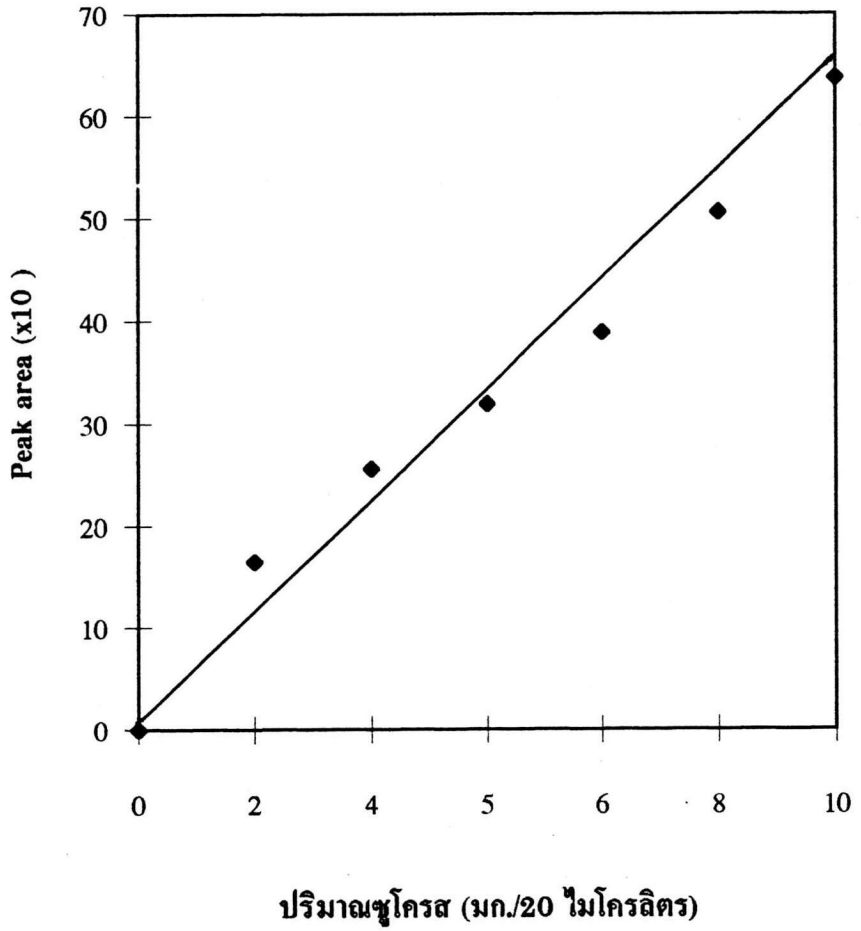
ภาคผนวกที่ 12 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณแอมโมเนียม-ไนโตรเจน
(ความชัน เท่ากับ 0.028)



ภาคผนวกที่ 13 ก. กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณฟรุคโตสที่วิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC ($3.17x10^{6}$)

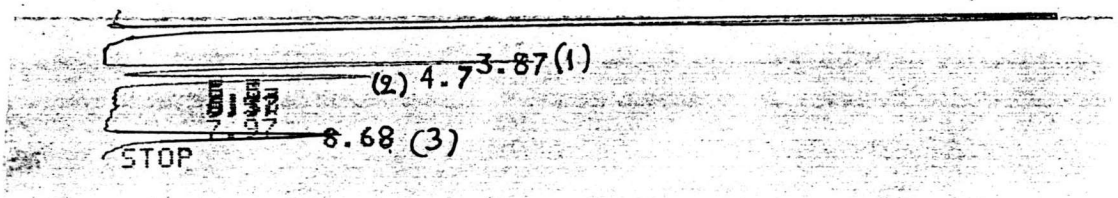


ภาคผนวกที่ 13 ข. กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณกลูโคสที่วิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC ($3.17x10^{6}$)



ภาคผนวกที่ 13 ค. กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณซูโครสที่วิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC ($3.17x10^{6}$)

START 16.03.09.25.

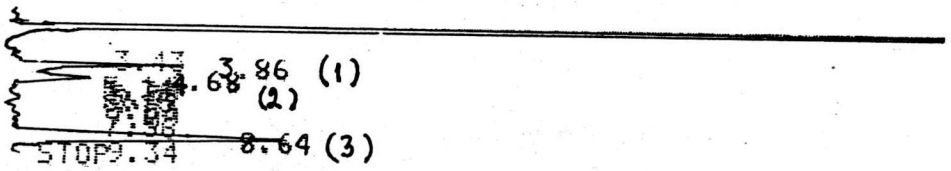


C-R1A
SMPL # 00
FILE # 8
REPT # 15412
METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		3.87	31.7539		231512
0		4.7	33.1349	V	241581
0		8.68	35.111	V	255988
	TOTAL		99.9999		729082

(ก.)

START 16.03.14.45.
STP TM 10
STP TM 100



C-R1A
SMPL # 00
FILE # 8
REPT # 15431
METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		3.43	1.2281		5979
0		3.86	21.9936	V	107078
0		4.66	15.3519	V	74742
0		5.91	1.8106	V	8815
0		8.64	59.6155		290244
	TOTAL		99.9999		486859

(ข.)

ภาคผนวกที่ 14 โครมาโตแกรมของน้ำตาลฟรุคโตส กลูโคส และซูโครส มาตรฐาน (ก.)
โครมาโตแกรมของน้ำตาลฟรุคโตส กลูโคส และซูโครส จากกากน้ำตาล (ข.)

(ก.) (1) ฟรุคโตส (3.87 นาที)
(2) กลูโคส (4.70 นาที)
(3) ซูโครส (8.68 นาที)

(ข.) (1) ฟรุคโตส (3.86 นาที)
(2) กลูโคส (4.66 นาที)
(3) ซูโครส (8.64 นาที)

ประวัติผู้เขียน

นางสาว รัตนศิริ มุทิตากุล เกิดวันที่ 15 ตุลาคม พ.ศ.2512 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในปีการศึกษา 2534 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ.2535