

เอกสารอ้างอิง

1. Stewart, J.C., Lester, A., Milburn, B. and Parry, J.B. "Xylanase and Cellulase Production by Aspergillus fumigatus fresenius" Biotechnology letters 5(8), (1983) : 543-548.
2. Wiegel, J., Mothershed, C.P. and Puls, J. "Differences in Xylan Degradation by Various Noncellulolytic Thermophilic Anaerobes and Clostridium thermocellum" Appl. Environ. Microbiol. 49(3), (1985) : 656-659.
3. Sreenath, H.K. and Joseph, R. "Stimulation of Glucose-Isomerase Production in Streptomyces fradiae SCF-5 by Enzyme Hydrolyzed Wheat Bran" J. Food. Sci. Technol. 15(1978) : 246-249.
4. Linko, M., Viikari, L. and Suihko, M.L. "Hydrolysis of Xylan and Fermentation of Xylose to Ethanol" Biotech. Adv. 2(1984) : 233-252.
5. Suminoe, K. and Okamura, K. "Manufacturing Method of Xylose with Cottonseed Hulls as Material" U.S.Pat. 3, 565, 687 Feb. 23, 1971.
6. Biely, P. "Microbial Xylanolytic Systems" Trends in Biotechnology 3(11), (1985) : 286-290.
7. Kusakabe, I., Yasui, T. and Kobayashi, T. "The Action of the Streptomyces Xylanase on Various Xylans and Xylooligosaccharides (Studies on Xylanase System of Streptomyces Part VIII)" J. Agric. Chem. Soc. Jap. 51(7), (1977) : 439-448.
8. Panbangred, W., Shinmyo, A., Kinoshita, S. and Okada, H. "Purification and Properties of Endoxylanase Produced by Bacillus pumilus" Agric. Biol. Chem. 47(5), (1983) : 957-963.

9. Srinivasan, M.C., Vartak, H.G., Power, V.K., Rele, M.V. and Bastawde, K.B. "Studies on Xylan Degrading Enzyme from Chainia" Biotech. Lett. 6(11), (1984) : 715-718.
10. Dekker, R.F.H. and Richards, G.N. "Hemicellulase : Their Occurrence, Purification, Properties and Mode of Action" Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 32(1976) : 277-352.
11. Rapp, P. and Wagner, F. "Production and Properties of Xylan-Degrading Enzymes from Cellulomonas uda" Appl. Environ. Microbiol. 51(4), (1986) : 746-752.
12. Stuttgen, E. and Sahm, H. "Purification and Properties of Endo-1, 4- $\beta$ -Xylanase from Trichosporon cutaneum" European J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 5(1982) : 93-99.
13. Nakajima, T., Tsukamoto, K., Watanabe, T., Kainuma, K. and Matsuda, K. "Purification and Some Properties of an Endo-1, 4- $\beta$ -D-Xylanase from Streptomyces sp." J. Ferment. Technol. 62(3), (1984) : 269-276.
14. Nakanishi, K., Yokotsuka, K. and Yasui, T. "Induction of Membrane-Bound Xylosidase in a Streptomyces sp." J. Ferment. Technol. 65(1), (1987) : 1-6.
15. John, M., Schmidt, B. and Schmidt, J. "Purification and some properties of five endo-1,4- $\beta$ -D-Xylanase and a  $\beta$ -D-Xylosidase produced by a strain of Aspergillus niger" Can. J. Biochem. 57(1979) : 125-134.
16. Leathers, T.D., Detroy, R.W. and Bothast, R.J. "Induction and Glucose Repression of Xylanase from a Color Variant Strain of Aureobasidium pullulans" Biotech. Lett. 8(12), (1986) : 867-872.

17. Roncero, M.I.G. "Genes Controlling Xylan Utilization by Bacillus subtilis" J. Bacteriol. 156(1), (1983) : 257-263.
18. Honda, H., Kudo, T., Ikura, Y. and Horikoshi, K. "Two types of Xylanase of alkalophilic Bacillus sp. No. C-125" Can. J. Microbiol. 31(1985) : 538-542.
19. Lee, S.F., Forsberg, C.W. and Gibbins, L.N. "Xylanolytic Activity of Clostridium acetobutylicum" Appl. Environ. Microbiol. 50(4), (1985) : 1068-1076.
20. Nakanishi, K., Arai, H. and Yasui, T. "Purification and Some Properties of Xylanase from Cryptococcus flavus" J. Ferment. Technol. 62(4), (1984) : 361-369.
21. Gascoigne, J.A. and Gascoigne, M.M. "The Xylanase of Fusarium roseum" J. Gen. Microbiol. 22(1960) : 242-248.
22. Takahashi, M. and Kutsumi, S. "Purification and Properties of Xylanase from Gliocladium virens" J. Ferment. Technol. 57(5), (1979) : 434-439.
23. Kitpreechavanich, V., Hayashi, M. and Nagai, S. "Purification and Properties of Endo-1,4- $\beta$ -Xylanase from Humicola lanuginosa" J. Ferment. Technol. 62(5), (1984) : 415-420.
24. Deshpande, V., Lachke, A., Mishra, C., Keskar, S. and Rao, M. "Mode of Action and Properties of Xylanase and  $\beta$ -xylosidase from Neurospora crassa" Biotech. Bioeng. 28(1986) : 1832-1837.
25. Mishra, C., Seeta, R. and Rao, M. "Production of Xylanolytic enzymes in association with the cellulolytic activities of Penicillium funiculosum" Enzyme. Microb. Technol. 7(1985) : 295-299.
26. Margaritis, A. and Merchant, R. "Xylanase, CM-Cellulase and Avicelase Production by the Thermophilic Fungus Sporotrichum thermophile" Biotech. Lett. 5(4), (1983) : 265-270.

27. Paice, M.G., Jurasek, L., Carpenter, M.R. and Smillie, L.B.  
"Production, Characterization and Partial Amino acid  
Sequence of Xylanase A from Schizophyllum commune" Appl.  
Environ. Microbiol. 36(6), (1978) : 802-808.
28. McCarthy, A.J., Peace, E. and Broda, P. "Studies on the Extracellular  
Xylanase Activity of some Thermophilic Actinomycetes"  
Appl. Microbiol. Biotechnol. 21(1985) : 238-244.
29. Kawaminami, T. and Iizuka, H. "Studies on Xylanase from  
Microorganisms (Part III. Production of Xylanase by  
Streptomyces xylophagus nov. sp.) Agric. Biol. Chem.  
33(12), (1969) : 1787-1789.
30. Sreenath, H.K. and Joseph, R. "Characteristics of an Intermediary  
Strain Obtained by Crossing Streptomyces fradiae SCF-5  
and Streptomyces exfoliatus MC<sub>1</sub>" J. Food. Sci. Technol.  
19(1982) : 19-22.
31. Kluepfel, D., Sareck, F., Mondou, F. and Morosoli, R.  
"Characterization of Cellulase and Xylanase activities  
of Streptomyces lividans" Appl. Microbiol. Biotechnol.  
24(1986) : 230-234.
32. Harish, V. and Joseph, R. "Xylanase Production by Ultra Violet  
Induced Variants of Streptomyces fradiae SCF-5" J. Food.  
Sci. Technol. 15(1978) : 243-246.
33. Mackenzie, C.R. and Williams, R.E. "Detection of Cellulase and  
Xylanase activity in isoelectric-focused gels using agar  
substrate gels supported on plastic film" Can. J. Microbiol.  
30(1984) : 1522-1525.
34. Nakanishi, K., Yasui, T. and Kobayashi, T. "A Preliminary  
Experiment on the Xylanase Production by Streptomyces sp."  
J. Ferment. Technol. 54(11), (1976) : 813-814.



35. Dekker, R.F.H. "Bioconversion of Hemicellulose" Aspects of Hemicellulase Production by Trichoderma reesei QM 9194 and Enzymic Saccharification of Hemicellulose" Biotech. Bioeng. 25(1983) : 1127-1146.
36. Mukherjee, M. and Sengupta, S. "An Inducible Xylanase of the Mushroom Termitomyces clypeatus Differing from the Xylanase/Amylase Produced in Dextrin Medium" J. Gen. Microbiol. 131 (1985) : 1881-1885.
37. Nakanishi, K., Yasui, T. and Kobayashi, T. "Inducers for the Xylanase Production by Streptomyces sp." J. Ferment. Technol. 54(11), (1976) : 801-802.
38. Nakanishi, K. and Yasui, T. "Kinetic Studies on Xylanase Induction by  $\beta$ -xyloside in Streptomyces sp." Agric Biol. Chem. 44(8), (1980) : 1885-1889.
39. Yasui, T., Nguyen, B. T. and Nakanishi, K. "Inducers for Xylanase Production by Cryptococcus flavus" J. Ferment. Technol. 62(4), (1984) : 353-359.
40. Gokhale, D.V., Puntambekar, U.S. and Deobagkar, D.N. "Xylanase and  $\beta$ -Xylosidase Production by Aspergillus niger NCIM 1207" Biotech. Lett. 8(2), (1986) : 137-138.
41. Okazaki, W., Akiba, T., Horikoshi, K. and Akahoshi, R. "Production and Properties of the types of Xylanases from alkalophilic thermophilic Bacillus spp." Appl. Microbiol. Biotechnol. 19(1984) : 335-340.
42. Shamala, T.R. and Sreekantiah, K.R. "Production of Cellulase and D-Xylanase by Some Selected Fungal isolates" Enzyme. Microb. Technol. 8(1986) : 178-182.

43. Yu, E.K.C., Tan, L.U.L., Chan, M.K.H., Deschleets, L. and Saddler, J.N. "Production of Thermostable Xylanase by a Thermophilic Fungus, Thermoascus aurantiacus" Enzyme. Microb. Technol. 9(1987) : 16-24.
44. Cauchon, N. and LeDuy, A. "Effect of Dilution on Carboxymethylcellulase and Xylanase Assays" Biotech. Bioeng. 26(1984) : 988-991.
45. Pridham, T.G. and Tresner, H.D. Streptomycetaceae in Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed. (Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E. ed.) pp.747-829. The William and Wilkins Company, Baltimore, U.S.A., 1974.
46. Somogyi, M. "Notes on Sugar Determination" J. Biol. Chem. 195(1952) : 19-23.
47. Nelson, N. "A photometric adaption of the Somogyi Method for the determination of glucose" J. Biol. Chem. 153(1944) : 375-380.
48. Marmur, J. "A procedure for the Isolation of Deoxyribonucleic Acid from Microorganisms" J. Mol. Biol. 3(1961) : 208-218.
49. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. "Protein measurement with the Folin phenol reagent" J. Biol. Chem. 193(1951) : 265-275.
50. Clark, J.M. and Switzer, R.L. in Experimental Biochemistry 2nd ed., pp.231, W.H. Freeman and Company, Sanfrancisco, 1977.
51. Shirling, E.B. and Gottlieb, D. "Methods for Characterization of Streptomyces species" International Journal of Systematic Bacteriology (16(3), (1966) : 313-340.
52. Nonomura, H. "Key for Classification and Identification of 458 species of the Streptomycetes Included in ISP" J. Ferment. Technol. 52(2), (1974) : 78-92.

53. ศิริลักษณ์ ธีระตากกร "การผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสจาก Streptomyces sp. 190-1 ในถังหมัก" วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2529
54. พิเชษฐ์ อรุณ "การผลิตแอลฟาอะไมเลส จาก B. amyloliquefaciens KA63" วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2528
55. Swanson, C.P. and Webster, P.L. in The Cell 5th ed., pp.153-154. Prentice-Hall, New Jersey, 1985.
56. Crawford, R.L. in Lignin Biodegradation and Transformation pp.7-19, John Wiley and Sons, New York, 1981.
57. Uchino, F. and Nakane, T. "A Thermostable Xylanase from Thermophilic Acidophilic Bacillus sp." Agric. Biol. Chem. 45(5), (1981) : 1121-1127.
58. Maheskwari, R. and Kamalam, P.T. "Isolation and Culture of a Thermophilic Fungus, Melanocarpus albomyces and Factors Influencing the Production and Activity of Xylanase" J. Gen. Microbiol. 131(1985) : 3017-3027.
59. Mishra, C., Keskar, S. and Rao, M. "Production and Properties of Extracellular Endoxylanase from Neurospora crassa" Appl. Environ. Microbiol. 48(1), (1984) : 224-228.

ภาคผนวก

ก. อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับปลูกเชื้อจากดินตัวอย่างและแยกเชื้อไพบริสที

ไซแลน (xylan)	0.2	เปอร์เซ็นต์
ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ )	0.4	"
โปตัสเซียมคลอไรด์ (KCl)	0.02	"
แมกนีเซียมซัลเฟต ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )	0.02	"
เฟอร์รัส ซัลเฟต ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ )	0.002	"
สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	0.01	"
วุ้น	2.0	"
ไซโคลเฮกซิมิด (cycloheximide)	50	ไมโครกรัมต่อ มล.
ปรับระดับความเป็นกรดค้างที่	7.0	
อบฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 121 องศาเซลเซียส 15 นาที(มาตรฐาน)		

2. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเก็บเชื้อ (Stock culture medium)

ไซแลน	1.0	เปอร์เซ็นต์
สารสกัดจากยีสต์	0.1	"
องค์ประกอบอื่น ๆ เหมือนภาคผนวก ก. หมายเลข 1 ยกเว้นไม่เติมไซโคลเฮกซิมิด		
อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน		



3. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเลี้ยงเชื้อในขวดแก้วรูปกรวยเพื่อผลิตไซแลนเนส

องค์ประกอบเหมือนภาคผนวก ก. หมายเลข 1 ยกเว้นไม่เติมวุ้นและไซโคลเฮกซิมิต  
อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน

4. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตไซแลนเนสสูตรปรับปรุงใหม่

ถากรำข้าว (rice bran)	5.0	เปอร์เซ็นต์
ไดโปคัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.3	"
โปคัสเซียมคลอไรด์	0.03	"
เฟอร์รัสซัลเฟต	0.002	"
ปรับระดับความเป็นกรดค้างที่	7.0	
อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน		

5. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับตรวจสอบเอ็นไซม์บีตา-ไซโลลิเตส

องค์ประกอบเหมือนภาคผนวก ก. หมายเลข 2 ยกเว้นไม่เติมวุ้น  
อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน

6. ซาเพค อการ์ (Czapek's Agar)

ซูโครส (sucrose)	30.0	กรัม
โซเดียม ซิเตรท (sodium citrate)	3.0	"
ไดโปคัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	4.0	"
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.5	"
โปคัสเซียมคลอไรด์	0.5	"
เฟอร์รัสซัลเฟต	0.01	"
วุ้น	15.0	"

น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน		

7. ซอลท์ โทเรอแลนซ์ อการ์ (Salt Tolerance Agar)

สารสกัดจากยีสต์	4.0	กรัม
สารสกัดจากมอลต์ (malt extract)	10.0	"
กลูโคส	4.0	"
วุ้นผง	15.0	"
น้ำกลั่น	1	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดต่างที่	7.3	
เติมโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 4, 7, 10 และ 13%		
อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน		

8. สตาร์ช อการ์ (Starch Agar)

แป้ง (starch)	10.0	กรัม
โซเดียมไนเตรท ( $\text{NaNO}_3$ )	1.0	"
โซเดียมคลอไรด์	0.5	"
ไดโปคัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.3	"
แมกนีเซียมคาร์บอเนต ( $\text{MgCO}_3$ )	1.0	"
วุ้นผง	15.0	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดต่างที่	7.0-7.2	
อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน		

9. ยีสต์เอกซ์แทรก-มอลท์เอกซ์แทรก อการ์ (Yeast Extract-Malt Extract Agar)

สารสกัดจากยีสต์	4.0	กรัม
สารสกัดจากมอลท์	10.0	"
เดกซ์โทรส (dextrose)	4.0	"
วุ้นผง	20.0	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดต่างที่ อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน	7.3	

10. โอทมีลล์ อการ์ (Oatmeal Agar)

น้ำต้มจากโอทมีลล์	20.0	กรัม
วุ้นผง	18.0	"
เทรซซอลท์ (trace salt)	1.0	มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรรวมให้เป็น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดต่างที่ อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน	7.2	

11. อินออร์แกนิก ซอลท์ สตาร์ชอการ์ (Inorganic Salt Starch Agar)

แป้งละลายน้ำ (soluble starch)	10.0	กรัม
ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	1.0	"
แมกนีเซียมซัลเฟต	1.0	"
โซเดียมคลอไรด์	1.0	"
แอมโมเนียมซัลเฟต $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	2.0	"
แคลเซียมคาร์บอเนต $(\text{CaCO}_3)$	2.0	"
เทรซซอลท์	1.0	มิลลิลิตร

น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดค้างที่	7.0-7.4	
วุ้นผง	20.0	กรัม
อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน		



12. กลีเซอรอล แอสพาราจิ้น อการ์ (Glycerol Asparagine Agar)

แอล-แอสพาราจิ้น (L-Asparagine)	1.0	กรัม
กลีเซอรอล (Glycerol)	10.0	"
ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	1.0	"
เทรสซอลท์	1.0	มิลลิลิตร
วุ้นผง	20.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน		

13. ไทโรซีน อการ์ (Tyrosine Agar)

กลีเซอรอล	15.0	กรัม
แอล-ไทโรซีน (L-Tyrosine)	0.5	"
แอล-แอสพาราจิ้น	1.0	"
ไดโปตัสเซียม ไฮโดรเจน ฟอสเฟต	0.5	"
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.5	"
โซเดียมคลอไรด์	0.5	"
เฟอร์รัสซัลเฟต	0.01	"
เทรสซอลท์	1.0	มิลลิลิตร
วุ้นผง	20.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร



ปรับระดับความเป็นกรดค้างที่ 7.2-7.4  
 ออบมาเชื้อแบบมาตรฐาน

14. เทรซซอลท์ (Trace Salts Solution)

คอปเปอร์ซัลเฟต ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )	0.64	กรัม
เฟอร์รัสซัลเฟต ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.11	"
แมงกานีสคลอไรด์ ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )	0.79	"
ซิงค์ซัลเฟต ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.15	"
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

15. เบซอลมินเนอรอล ซอลท์ สตาร์ช อการ์ (Basal Mineral Salt Starch Agar)

แอมโมเนียมซัลเฟต	2.64	กรัม
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	2.38	"
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	5.65	"
แมกนีเซียมซัลเฟต	1.0	"
เทรซซอลท์	1.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
วุ้นผง	15.0	กรัม
ปรับระดับความเป็นกรดค้างที่	6.8-7.0	
ออบมาเชื้อแบบมาตรฐาน		

เติมน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ลงไปให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1.0% น้ำตาลที่ใช้มี  
 ดังนี้คือ ดี-กลูโคส แอล-อราบิโนส ซูโครส ดี-ไซโลส แอล-อินโนซิทอล ดี-แมนนิทอล  
 ดี-ฟรักโทส แรมโนส แรพทีโนส ซัลลิซินและกาแลคโทส โดยออบมาเชื้อที่ความดัน 10 ปอนด์  
 115 องศาเซลเซียส 15 นาที

16. ทริปโตน-ยีสต์เอกซ์แทรกต์บรอต (Tryptone-Yeast Extract Broth)

ทริปโตน	5.0	กรัม
สารสกัดจากยีสต์	3.0	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
ปรับระดับความเป็นกรดค้างที่ อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน	7.0-7.2	

17. ลิทมัสมิลค์ (Litmus Milk)

สคิมมิลค์ (Skim milk)	100.0	กรัม
ลิทมัส	0.75	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน		

18. นิวเทรียนท์ เจลาติน (Nutrient Gelatin)

สารสกัดจากเนื้อ (beef extract)	3.0	กรัม
เปปโตน	5.0	"
เจลาติน	120.0	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน		

19. ไนเตรท บรอต (Nitrate Broth)

สารสกัดจากเนื้อ	3.0	กรัม
เปปโตน	5.0	"
โปตัสเซียมไนเตรท	1.0	"

น้ำกลั่น	1.0	ลิตร
อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน		

20. นิวเทรียนท์ อการ์ (Nutrient Agar)

สารสกัดจากเนื้อ	3.0	กรัม
เปปโตน	5.0	"
วุ้นผง	15.0	"
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ข. สารเคมี

1. รีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

1.1 อัลคาไลน์ คอปเปอร์ รีเอเจนต์ (Alkaline Copper Reagent)

ละลายไตรโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) 71 กรัม และโรเชลล์ ซอลท์ (Rochelle Salt) 40 กรัม ในน้ำกลั่น 700 มล. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1N 100 มล. แล้วเติมสารละลายของคอปเปอร์ซัลเฟต ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) ความเข้มข้น 10% 80 มล. ผสมให้เข้ากัน แล้วทำให้ร้อน จากนั้นเติมโซเดียมซัลเฟต ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) จำนวน 180 กรัม ละลายให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร เก็บในขวดสีน้ำตาล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24-48 ชั่วโมง ถ้ามีตะกอนกรองออกแล้วจึงนำไปใช้

1.2 เนลสัน รีเอเจนต์ (Nelson Reagent)

ละลายแอมโมเนียม โมลิบเดต ( $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) 53.2 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มล. แล้วเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 21 มล. ผสมให้เข้ากัน เติมสารละลายของโซเดียม ออซีเนท ( $\text{NaHAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ความเข้มข้น 12% 50 มล. ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 1 ลิตร แล้วเก็บในขวดสีน้ำตาล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง ถ้ามีตะกอนกรองออกแล้วจึงนำไปใช้



## 2. สารละลายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

### 2.1 สารละลายผสม C

1% ของคอปเปอร์ซัลเฟต	1	มล.
2% ของโซเดียมโปคัสเซียมทาทเรท	1	มล.
2% ของโซเดียมคาร์บอเนตใน 0.1N NaOH	100	มล.

### 2.2 สารละลาย D

ฟีนอล รีเอเจนท์	1	ส่วน
น้ำกลั่น	1	"

## 3. สารละลายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ DNA

### 3.1 1X เซไลน์ ซิเตรท (1X saline citrate)

โซเดียมคลอไรด์	0.15	โมลาร์
โซเดียมซิเตรท	0.015	"

### 3.2 ไดฟีนีลามีน รีเอเจนท์ (Diphenylamine Reagent)

ไดฟีนีลามีน	5	กรัม
กลูตาซีล อะซีติก แอซิด	500	มล.
กรดซัลฟูริกเข้มข้น	13.75	"
น้ำกลั่น	500	"

ก. การเตรียมตัวอย่างสำหรับศึกษา  
ควยกลองจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน

1. นำตัวอย่างมาตัดเป็นชิ้นส่วนให้ได้ขนาดตามความเหมาะสม แล้วนำไปแช่ในน้ำยาคองซันแรก (primary fixative) ซึ่งประกอบด้วย 4% ของพารา-ฟอร์มอลดีไฮด์ (p-formaldehyde) ใน 0.1 โมลาร์ของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-18 ชั่วโมง ล้างใน 0.1 โมลาร์ของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 3 ครั้ง ๆ ละ 15 นาที แล้วนำตัวอย่างไปแช่ในน้ำยาคองซันที่สอง (secondary fixative) ซึ่งประกอบด้วย 1% ของออสเมียม เตตระออกไซด์ (osmium tetroxide,  $OsO_4$ ) ใน 0.1 โมลาร์ของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ทิ้งไว้ 1-2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (20 องศาเซลเซียส ภายใต้ตู้ดูดควัน)

2. ทำการขจัดน้ำออก (dehydration) โดยเทน้ำยาคองซันที่สองออกแล้วใส่เอทานอลตามขั้นตอนต่อไปนี้

2.1	จุ่มตัวอย่างใน	35%	เอทานอล
2.2	จุ่มใน	50%	เอทานอล
2.3	จุ่มใน	70%	เอทานอล
2.4	จุ่มใน	95%	เอทานอล
2.5	จุ่มใน	100%	เอทานอล

แต่ละขั้นตอนใช้เวลา 10-20 นาที

3. ทำตัวอย่างให้แห้ง โดยการทำให้แห้ง ณ จุดวิกฤต (critical point drying) โดยใช้เครื่องทำให้แห้ง (critical point dryer model SAMDRI-780)

4. นำตัวอย่างไปติดบนแท่นทองเหลืองด้วยกาวติดตัวอย่างที่นำไฟฟ้าได้ (electroconductive adhesive)

5. นำตัวอย่างไปเคลือบผิวด้วยทองคำความหนาประมาณ 20 นาโนเมตร ในเครื่อง ion sputter coater (model JSC-110)

6. นำตัวอย่างไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscope, model JSM-35CF)

(ที่มา : ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี)

## ประวัติผู้เขียน

นางสาวกาญจนา วรวิทย์วัฒนะ เกิดวันที่ 18 เมษายน พ.ศ. 2505  
ในจังหวัดปราจีนบุรี ได้รับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา จากคณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน ในปีการศึกษา 2526

