เอกสารอ้างอิง

1. Lehninger A.L., "Priciple of Biochemistry", pp 156-157, Worth, New York,1978.
2. Moo-Young, M., "Topics in Microbial Polysaccharide", pp 1011, Pergamon Press,1985.
3. Paul A.S., "A Survey of Possible New Polysaccharides", pp 251-255, San Diego, USA,1979.
4. Rehm, H.J. and Reed.,"Extracellular Polysaccharide Volume 3", pp 551-553,Verlag Chemia,1982.
5. Blanshard,J.M.V. and J.R. Mitchell,"Polysaccharides in Food", pp 252, Butherworths,1979.
6. Slodki,M.E. and L.J. Wickerham,"The Neutral,Microbial Polysaccharides of Commercial Importance",J. Gen. Microbiol., 42,381-385,1966.
7. Johnson,J.J., Jr.,S. Kirkwood,A. Misaki,T.E. Nelson,J.V. Scaletti and F. Smith,"Chemical Industry",pp 820-822, London,1963.
8. Bluhm,T.L.,Y. Deslandes and R.H. Marchessault,"Solid-State and Solution Conformation of Scleroglucan",Carbohydr. Res.,100,pp 117-130,1982.
9. Compere,A.L. and W.L.,Griffith.,"Scleroglucan Biopolymer Production,Properties and Economics",pp 441-446,Pergamin Press,Canada,1978
10. Griffith, W.Z. and A.L., Compere.,"Production of a high viscosity glucase by Sclerotium rolfsii ATCC 15206", Dev. Ind. Microbiol.,19,609-617,1978.
11. Prem,P.S. and R.L.,Whistler.,"Scleroglucan, an antitumor polysaccharide from Sclerotium glucanicum",Carbohydr. Res.,37,245-247,1974.
12. Barnett, H.L.,etal,"Mycological Handbook", pp 546, McGrawn Hills,1974.
13. Ueda,S.,M.,Fumiko.,K. Osajima and K.,Ito.,"Extracellular

Polysaccharide Produced by strain No. 626 of Aeromonas hydrophila",Agric. Biol. Chem.,45(9),1977-1981,1981.

14. Hough,L.,"Analysis of Mixtures of Sugars by Paper and Cellulose Column Chromatography".in Method of Biochemical Analysis (Grick,D. ed.)Vol.1,pp 205-242.Interscience Publishers,New York,1954.
15. Mayer,F.C. and Lerner,J.,"Substrate Cleavage Point of the α- and β- Amylase",J. Amer, Chem. Soc.81,188-193,1959.
16. Roger,N.E. In "Industrial Gums"(R.L., Whister and J.N., Bemiller,eds.),pp 499-511,Academic Press,New York and London,1984.
17. Hiura,N. etal "Alkali Extraction of β-D-glucans from the Sclerotia of Corticium rolfsii". Agric. Biol. Chem., 48(2),pp 541-542,1984.
18. Poonpilai,S.,A.,Akinori.,M.,Hisamatsu and T.,Harada.,"Study on the Product and Structure of polysaccharide of Yeast like fungi (Aureobasidium sp.)". Annual Report of IC-Biotech,Vol. 5,pp 223-233,1980.
19. Davis,E.N.,R.A.,Rhodes and H.R. Shukle."Appl. Microbiol.,13, pp 267-271,1965
20. Komatsu,N.,S. Okubo,S. Kikumoto,K. Kimura,G. Saito and S. Sakai,Gann,60,137-144,1969.
21. Chihara,G., J. Hamuro, Y. Maeda, Y. Arai and F. Fukuoka, Natural,225,943-944,1970.
22. Smith, J.E. "Biotechnology Principles" pp. 8-9, American Society for Microbiology Washington,D.C. 20006,USA,1985.
23. Oura, E. "Biomass from Carbohydrates" in Biotechnology Vol.3 pp. 18-19,Verlag Chemie,1983.
24. ปราณี อ่านเปรื่อง."การใช้กากน้ำตาลสำหรับหมักกรดแลคติก". วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 11(1) หน้า 85-88.2529.
25. Difco Laboratories, DIFCO MANUAL, pp. 258, Detroit Michigan USA,1984.
26. Kritzman,G.,I. Chet and Y. Henis,"Effect of carbon dioxide on

growth and carbohydrate metabolism in Sclerotium rofsii". J. of Gen Micro.,100,167-175,1978.

27. The Brookfield Digital Viscometer Model DV-II."operating instruction"
28. The Brookfield Viscometer."More Solution to sticky problems".
29. Milas,M. and M. Rinaudo,"Behavior of Scleroglucan in aqueous solution containing sodium hydroxide."J. Biol. Macromol., 9,3,pp. 153-157,1987.
30. Buser,A.J. and Efimor I.P.E."Chemistry Defination Nations Terminology"pp. 197-198,Mir Publisher,1984.
31. Biopolymer Research Center (BRC), Dep. of Chemistry, Fac. of Science, Srinakarinwirot Univ. Bangkok, Thailand, "Seminar and Workshop on From Sea Weed to Biotechnology." 19-20 January, 1989.
32. Weim, R.J., Agar gel electrophoresis, pp. 110-113, Elseviwr Amserdam,1965.
33. Gerald,O.A. "Polysaccharide", pp. 1-13, Pergamon Press, 1970.
34. Sephadex Gel Filtration in theory and practise, Upplands Grafiska AB, Sweden, 1974.
35. Harada,T., "Special Bacterial Polysaccharide and Polysaccharases".Biochem Soc. Symp.,48,pp. 97-116, 1976.
36. Pace,G.W., "Microbial Polysaccharide" pp. 433-439, Pergamon Press,1980.
37. Sutherland, I.W., "Enhancement of Polysaccharide Viscosity by Mutagenesis",J. of Appl Biochem, 1, pp. 60-70,1979.
38. Sasaki,H., K. Kurosawa and S. Takao, "Screening of Microorganisms for raw starch Saccarifying Enzyme Production" Rapid Paper. Hokkaido University. 23 December,1985.
39. Paul,F.,A.,Moria and P. Monsan.,"Microbial Polysaccharides with Actual Potential Industrial Applications" Biotech Adv.,4,pp. 245-259,1986.
40. G.R. Sacco,Biopolymers,Futurescope,pp 2 A.D. Little Decision Research.,1984.

ภาคผนวก ก
สูตรและวิธีการเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อมันฝรั่ง (Potato Dextrose Agar) สำหรับการแยกและเก็บรักษาเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

มันฝรั่งหั่น	200	กรัม
เด็กซ์โตรส	20	กรัม
วุ้นผง	15	กรัม

เตรียมโดยการนำมันฝรั่งมาปอกเปลือกแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ชั่งน้ำหนักให้ได้ 200 กรัม ต้มในน้ำเดือด 10 นาที กรองส่วนน้ำมาเติมส่วนผสมอื่น ๆ ข้างต้นจนมีปริมาตรครบ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่สภาวะมาตรฐาน 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Czapex's Dox สำหรับศึกษาหาปริมาณที่เหมาะสมของแหล่งอาหารต่าง ๆ ในการผลิตโพลีแซคคาไรด์

อาหารแหล่งคาร์บอนที่แปรผันปริมาณ

โซเดียมไนเตรท	3.0	กรัม
โปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	1.0	กรัม
โปตัสเซียมคลอไรด์	0.5	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.5	กรัม

เติมน้ำให้ครบ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. รีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar)

1.1 กรดซัลฟูริกเข้มข้น

1.2 สารละลาย 5% ฟีนอล

เตรียมโดยชั่งฟีนอล 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้เข้ากันจนมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มล. เก็บใส่ขวดสีน้ำตาล จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างจำนวน 0.5 มล. ทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟูริกเข้มข้น จำนวน 2.5 มล. และสารละลาย 5% ฟีนอล เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 20 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปคโตรนิค 21 นำค่าที่ได้หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานเด็กซ์ทริน

2. รีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar)

วิเคราะห์โดยวิธี DNS (Miller,1959)

2.1 สารเคมีที่ใช้

น้ำกลั่น	1416.0	มิลลิลิตร
3,5-dinhitrosalicylic acid	10.0	กรัม
Sodium hydroxide	19.0	กรัม

ละลายทั้งหมดให้เข้ากันแล้วเติม

Potassium sodium tartate	306.0	กรัม
Phenol (หลอมเหลวที่ 50 ซ)	7.6	กรัม
Sodium metabisulfite	8.3	กรัม

เก็บรีเอเจนต์ที่เตรียมได้ในขวดสีน้ำตาล จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างที่ต้องการทดสอบจำนวน 1 มล. ใส่ลงใน DNS รีเอเจนต์ที่เตรียมไว้ที่มีจำนวน 3 มล. นำไปต้มน้ำเดือดนาน 10 นาที ทำให้เย็นโดยแช่ในอ่างน้ำแข็ง จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไปจำนวน 10 มล. เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวช่วงคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปคโตรนิค 21 นำค่าที่ได้ไปหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส

3. รีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส

วัดปริมาณกลูโคสโดยใช้พีจีโอ เอนไซม์ (PGO-enzyme) หรือระบบเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (peroxidase and glucoxidase) (Sigma,1980) เตรียมรีเอ

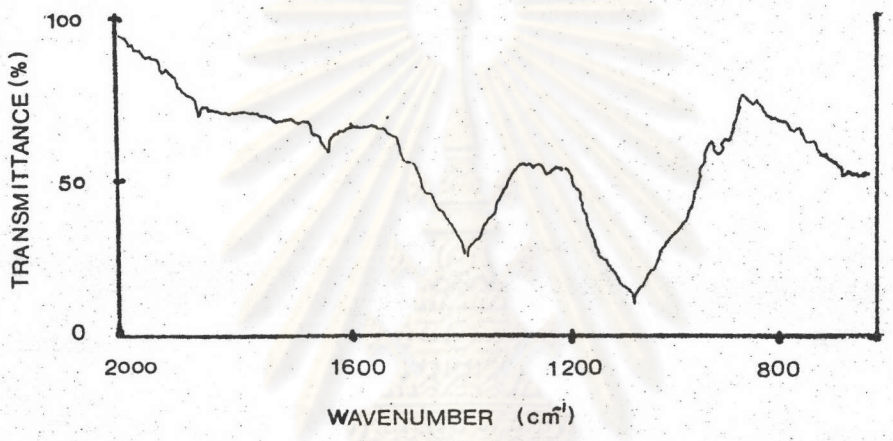
เจนต์โดยละลายนีจีโอ เอนไซม์ 1 แคปซูลในน้ำ 99.5 มล. ผสมกับสีโอ-ไดอะนิซีดีน 1% ซึ่งละลายในเอธานอลปริมาณ 0.5 มล. จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างที่ต้องการจะทดสอบจำนวน 0.5 มล. ทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์จำนวน 5 มล. เขย่าให้เข้ากัน นำไปแช่ในอ่างน้ำปรับอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปคโตรนิค 21 นำค่าที่ได้มาหาปริมาณกลูโคส โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

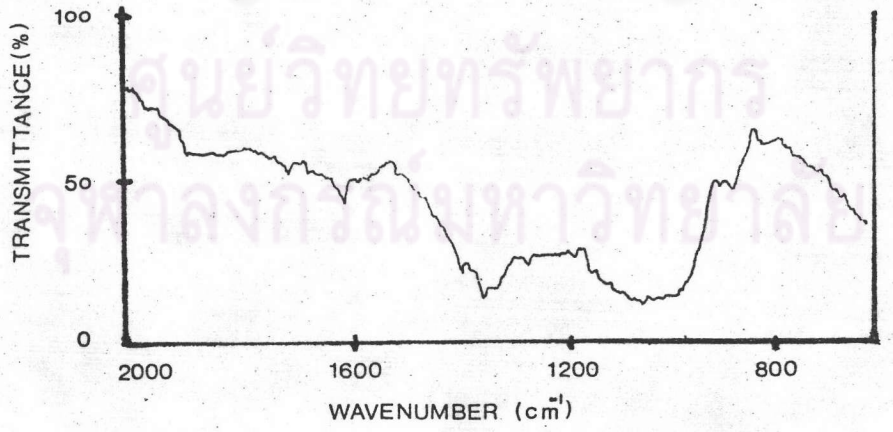
ภาคผนวก ค

แสดงกราฟเปรียบเทียบการทำอินฟราเรดสเปคตรา (Infrared spectra;IR) ระหว่างสเคลอโรกลูแคนที่ผลิตได้ในการทดลอง (รูปที่ 1) กับสเคลอโรกลูแคนที่ทำการศึกษาโดย Kritzman และคณะ,1979 (รูปที่ 2)

จากค่า wavenumber ที่ประมาณ 890 cm^{-1} จะปรากฏ Peak ซึ่งแสดงถึงพันธะบีต้า (β-linkage) ระหว่างโมเลกุลของกลูโคส



(1)



(2)

ประวัติผู้เขียน

นายหนึ่ง เตียอำรุง เกิดเมื่อวันที่ 21 กรกฎาคม พ.ศ. 2508 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อปีการศึกษา 2530 ในระหว่างศึกษาระดับปริญญามหาบัณฑิต มีผลงานทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับวิทยานิพนธ์ดังนี้ คือ

Pichayangkura,S. and Teaumroong,N."Detection of Polysaccharides from some Edible Mushrooms".NRCT-JSPS Seminar on Biotechnology,24-27 Dec. 1984,ChiangMai University,Thailand.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย