เอกสารอ้างอิง

Ait, N., Greuzet, N., and Forget, P. 1979. Partial purification of cellulase from Clostridium thermocellum. J.Gen.Microbiol. 113 : 399.

Alexander,M. Introduction to solid microbiology, 2nd ed.(New Delhi: Wiley Eastern Ltd., 1977), p 472

Allen, A.L. 1983. Enzymic hydrolysis of cellulose to fermentable sugars. In D.L. Wise. (ed.), Liquid Fuel Developments, pp. 49-64. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Ander, D. 1979. Fungal degradation of wood with special reference to lignin-related substances. Royal Institute of Technology Stockholm, Sweden, pp. 3-6.

Andren, R.K., and Nystrom, J.M. 1976. Pilot-scale production of cellulase and enzymatic hydrolysis of waste cellulose. AICHE Symp. Ser. 72 : 91

Ayers, A.R., Ayers, S.B., and Eriksson, K.E. 1978. Cellobiose oxidase : Purification and partial characterization of a haemoprotein from Sporotrichum pulverulentum. Eur.J. Biochem. 90 : 171-181.

Ayers, W.A. 1959. Phosphorylation of cellobiose and glucose by Ruminococcus flavefaciens. J.Bacteriol. 76 : 515-523.

Bassham, J.A. 1975. Cellulose utilization. Biotechnol.Bioeng.Symp. No. 5 : 9-19.

Beldman, G., Searle-Van Leewen, M.F., Rombouts, F.R., and Voragen, F.G.J. 1985. The cellulase of Trichoderma viride. Purification, characterization and comparison of all detectable endoglucanases, exoglucanases and β-glucosidases. Eur.J.Biochem. 146: 301-308.

_____., Veragon, A.G., Rombout, F.M., Searle-vanleevwen, M.F., and Pilnic.1987. Adsorption and kinetic behavior of purified endoglucanases and exoglucanases from Trichoderma viride.Bio technology and Bioengineering. 30 : 251-257

Blanch,H.W., and Wilke,C.R. 1983. Cellulase production and kinetics. 1982. H.E. Duckworth., and E.A. Thompson.(eds.), Proc. Inc. Symp. Ethanol Biomass. 415-441

Boretti, G., Garafamo, L., Montecucci, P., and Sapallao. 1972. Cellulase production with Penicillium iriense. Arch. Mikrobiol. 92 : 189-200.

Boyer, M.H., Chambost, J.P., Magnan, M., and Cattaneo, J. 1984 . Carboxymethylcellulose from Erwinia chrysanthemi II. Purification and partial characterization of and endo-β-1,4-glucanase. J. of Biotechnology 1: 241-252

Bressani, R. 1968 The use of yeast in human food. In R.I. Mateles and S.R. Tannenbaum (eds.), Single cell protein. pp. 90-121 The MIT Press, Massachusetts, U.S.A.

Bridson, E.Y., and Brecker, A. 1970. Design and formulation of microbial culture media. In J.R. Norris and D.w. Ribbons. (eds.), Methods in Micrology. 34 : 229-295. Academic Press, London.

Bronnenmeier, K., and Staudenbaver, W.L. 1989. Resolution of Clostridium sterorarium cellulase by fast protein liquid chromatography (FPLC). Appl. Micro. Biotechnol. 27. 432-436

Brown, D.E. 1970. Aeration in the submerged culture of microorganisms. In J.R. Norris and D.W. Ribbons. (eds.), Methods in Microbiology. 2 : 137-174. Academic Press, London.

_____., and Zainudeen, M.A. 1977. Growth kinetics and cellulase biosynthesis in the continuous culture of Trichoderma viride. Biotechnol.Bioeng. 19 : 941.

Calza, R.E., Irwin, D.C., and Wilson, D.B. 1985. Purification and characterization of two β-1,4-endoglucanases from Thermomonospora fusca. Biochemistry. 24 : 7797-7804.

Caygill, J.C. 1979. Sulfhydryl plant proteinase. Enzyme Microb.Technol. 1 : 233.

Chahal, D.S. 1985. Solid-state fermentation with Trichoderma reesei for Cellulase production. App.Environ.Microbiol. 49 : 205.

Charm, S.E., and Wong, B.L. (1970). Enzyme inactivation with shearing. Biotechnol.Bioeng. 12 : 1103.

_____., and Wong, B.L. 1981. Shear effect on enzymes. Enzyme.Microb.Technol. 3 : 111.

Coutts and Smith, R.E. 1976. Factors influencing the production of cellulases by Sporotrichum thermophile. Environ. Microbiol. 31 : 819.

Cowling, E.B. 1975. Physical and chemical constraints in the hydrolysis of cellulose and lignocellulosic materials. Biotechnol.Bioeng.Symp. No. 6 : 163-181.

_____., and Kirk, T.K. 1976. Properties of cellulose and lignocellulosic materials as substrates for enzymatic conversion processes. Biotechnol.Bioeng.Symp. No.6 : 95-123.

Demain, A.L. 1972. Theoretical and applied aspects of enzyme regulation and biosynthesis in microbial cell. Biotechnol. Bioeng. Symp. 3 : 21.

_____. 1983. Catabolite regulation in industrial microbiology. In V. Krumphanzl., B. Sikyta., and Z. Uanek. (eds.), Overproduction of Microbial Products. FEMS Symposium No. 13 : 3-20. Academic Press, London.

Deschamps, F., and Huet, M.C. 1984a. β-glucosidase production by Aspergillus phoenicis in solid-state fermentation. Biotechnol. lett. 6 : 55.

_____. 1984b. β-glucosidase production in agitated solid-state fermentation, study of its properties. Biotechnol. lett. 6 : 451.

Desai, J.D., Desai, A.J., and Patel, N.P. 1982. Production of cellulases and β-glucosidase by snake culture of Scytalidium lignicola. J.Ferment.Technol. 60 : 117.

Durand, H., Soucaille, F., and Tiraby, G. 1984. Comparative study of cellulases and hemicellulases from four fungi : Mesophiles Trichoderma reesei and Penicillium sp. and thermophiles Thielavia terrestris and Sporotrichum cellulophilum. Enzyme Microb. Technol. 6 : 75.

Enari, T.M. 1983. Microbial cellulases. In W.M. Fogarty. (ed.), Microbial Enzyme and Biotechnology pp. 183-224. Applied Science Publishers, London.

Eriksson, K.E., and Pettersson, B. 1982. Purification and partial characterization of two acidic proteases from the white-rot fungus Sporotrichum pulverulentum. Eur.J.Biochem. 124 : 635-642.

_____., and Wood, T.M. 1985. Biodegradation of cellulose. In T. Iliguchi. (ed.), Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components. Academic Press.

Eriksen, J., and Goksoyr, J. 1976. The effect of temperature on growth and cellulase (β-1,4-endoglucanase) production in the compost fungus Chaetomium thermophile var. dissitum. Arch.Microbiol. 110 : 233.

Enari, T.M., and Markkanen, P. 1977. Production of cellulolytic enzymes by fungi. In T.K. Ghose., A. Fiechter., and N. Blakebrough. (eds.), Advances in Biochemical Engineering. 5 : 1-22.

Faith, W.T., Neubeck, C.E., and Reese, E.T. 1971. Production and applications of enzymes. Adv.Biochem.Eng. 1 : 77.

Fennington, G., Neubaver, D., and Stutzenberger, F. 1984. Cellulase biosynthesis in a catabolite repression-resistant mutant of Thermomonospora curvata. Appl.Environ.Micorbiol. 47 : 201.

Fugino, T., Sukhumavasi, J., Sakaki, T., Ohmiya, K., and Shimizu, S. 1989. Purification and properties of endo-1,4-β-glucanases from Clostridium josui. J. Bacteriology 171 : 4076-4079.

Gallo, B.J. 1980. Cellulase-Producing Microorganism. PCT World Patent WO 80/01080.

Gallo, B., Tassanari, T., Spano. L., and Ryu, D.D.Y. 1981. Cellulase process improvement and its economics. In C. Vezina and K. Sing. (eds.), Advances in Biotechnology, III. Fermentation Products. pp. 281-288. Pergamon Press, Oxford, U.K.

Ghose,T.K. 1977. Cellulase biosynthesis and hydrolysis of cellulosic substances. Advances in Biochemical Engineering 5 : 39-73.

_____., and Sahai, V. 1979. Production of cellulases by Trichoderma reesei QM 9414 in fed-batch and continuous-flow culture with cell recycle. Biotechnol Bioeng. 21 : 283.

Griffin, H.L. 1973. Filter paper assay-effect of time and substrate concentration on cellulase activity. Anal.Biochem. 56 : 621-625.

Gum, E.K. and Brown, R.D. 1977. Comparison of four purified extracellular 1,4-β-glucan cellobiohydrolase enzymes from Trichoderma viride. Biochim. Biophys. Acta. 492 : 225-231.

Gupta, J.K., Das, N.B., and Gupta, Y.P. 1972. Effect of cultural conditions on cellulase formation by Trichoderma viride. Agric.Biol.Chem. 36 : 1961.

Halliwell, G., and Riaz, M. 1970. The formation of short fibres from native cellulose by components of Trichoderma oningii cellulase. Biochem.J. 116 : 35-42.

Hayn,M.,and Esterbauer.1985. Separation and partial characterization of Trichoderma reesei cellulase by fast chromatofocusing. J. of Chromatography. 329 : 379-387.

Han, Y.W., and Srinivasan, V.R. 1968. Utilization of bagasse. In R. F. Gould. (ed.), Adv.Chem.Ser. 95 : 447-460. American Chemical Society, Washington, D.C.

Hendy, N.A., Wilke, C.R., and Blanch, H.W. 1982. Enhaneed cellulase production using solka floc in a fed-batch fermentation. Biotechnol.Lett. 4 : 785.

_____., Wilke, C.R., and Blanch, H.W. 1984. Enhanced cellulase production in fed-batch culture of Trichoderma reesei C 30. Enzyme Microb Technol. 6 : 73.

Hoffman, R.M., and Wood, T.M. 1985. Isolation and partial characterization of a mutant of Penicillium funiculosum for the saccharification of straw. Biotechnol. Bioeng. 27, 81

Hostomska, Z., and Mikes, O. 1983. Analytical medium pressure liquid chromatography of cellulolytic enzymes on spheron ion exchanger. J. of Chromatography. 267 : 355-366.

Hulcher, F.H., and King, K.W. 1968. Metabolic basic for disaccharide. J.Bacteriol. 76 : 571-577.

Joglekar, A.V., and Karanth, N.G. 1984. Studies on cellulase production by a mutant Penicillium funiculosum UV49. Biotechnol.Bioeng. 26 : 1079.

Kawamori, M., Morikawa,Y., Shinsha, Y., Takayama, K., and Takasawa,S. 1985b. Preparation of mutants resistant to catabolite repression of Trichoderma reesei. Agric. Biol. 49 : 2875.

_____., Morikawa, Y., and Takasawa, S. 1985a. Inductive formation of cellulases by L-sorbose in Trichoderma reesei. Appl.Micorbiol.Biotechnol. 22 : 235.

Kim, J.H., Hosobuchi, M., Kishimoto, M., Seki, T., Yoshida, T., Taguchi, H., and Ryu, D.D.Y. 1985. Cellulase production by a solid-state culture system. Biotechnol Bioeng. 27 : 1445.

Knowles, J.R. 1976. Crit. Rev. Biochem. 4 : 65.

Komura, I., Awao, T., and Yamada, K. 1978. Thermostable cellulase and method for producing the same. US Patent 4106989.

Kosaric, N., D.C.M. NG., Russell, I., and Stewart, G.C. 1980. Ethanol production by fermentation : An alternative liquid fuel. In D. Perlman. (ed.), Advances in Applied Microbiology 26 : 148-227.

Kubicek, C.P. 1981. Release of carboxymethyl cellulase and β-glucosidase from cellwalls of Trichoderma reesei. Eur.J. Appl.Microbiol.Biotechnol. 13 : 226.

Lachke, A.H. 1986. Isolation of a hypercellulolytic mutant (Cu-1) of Penicillium funiculosum. Enzyme.Microb.Technol. 8 : 105.

_____., Bastawde, K.B., Powar, V.K., and Srinivasan, M.C. 1983. Enhanced production of extracellular β-glucosidase by Penicillium funiculosum in submerged culture. Biotechnol.Lett. 5 : 649.

Loewenberg, J.R. 1984. Sophorose induction of an intracellular-glucosidase in Trichoderma sp. Arch. Microbiol. 139 : 53.

Levinson, H.S., Mandels, G.R., and Reese, E.T. 1951. Products of enzymatic hydrolysis of cellulose and its derivative. Arch. Biochem. Biophys. 31 : 351-365.

Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.L. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J.Biol. Chem. 193 : 265-275.

Macris, B.J. 1984. Enhanced cellulase and β-glucosidase production by a mutant of Alternaria alternata. Biotechnol.Bioeng. 26 : 194.

_____., and Galiotou-Panayotou, M. 1986. Enhanced cellobiohydrolase production from Aspergillus ustus and Trichoderma harzianum. Enzyme Microb.Technol. 8 : 141.

Mandels, M. 1960. Induction of cellulase in fungi by cellobiose. J. Bacteriol. 79 : 816-826.

Mandels, M. 1975. Microbial sources of cellulase. Biotechnol. Bioeng.Symp. No. 5 : 81-110.

_____., and Andreotti, R.E. 1978. Problems and challenges in the cellulose to cellulase fermentation. Process Biochem. 13(6) : 6.

_____., and Roche, C. 1976. Measurement of saccharifying cellulase. Biotechnol.Bioeng.Symp. No. 6 :21-23.

_____., and Parrish, F.W., and Reese, E.T. 1962. Sophorose as an inducer of cellulase in Trichoderma viride. J.Bacteriol. 83 : 400.

_____., and Reese, E.T. 1957. Induction of cellulase in Trichoderma viride as influenced by carbon sources and metals. J.Bacteriol. 73 : 269-278.

_____., and Sternberg, D. 1976. Recent advances in cellulase technology. J.Ferment.Technol. 54 : 267.

_____., and Weber, J. 1969. The production of cellulases. In R.F. Gould. (ed.), Cellulases and Their Applications. Adv.Chem.Series 95 : 391-414, American Chemical Society, Washington D.C.

Mc. Burney, L.F. 1954. Kinetics of degradation reaction. In E. Ott., H.M. Spurtin., and M.W. Graffin. (eds.), High Polymer,Vol 5, Pt.1, Cellulose and Cellulose derivatives, New York, Interscience Publisher, p. 95-129.

Mc.Kenize, H.A., and Wallace, H.S. 1954. The Kjeldahl determination of nitrogen. Aus.J.Chem. 7 : 55-60.

Mishra, S., Gopalkrishnan, K.S., and Ghose, T.K. 1982. A constitutively cellulase-producing mutant of Trichoderma reesei. Biotechnol. Bioeng. 24 : 251.

McLean, D., and Podruzny, M.F. 1985. Further support for fed-batch production of cellulases. Biotechnol.Lett. 7 : 683.

Moloney, A.P., McCrae, S.I., Wood, T.M., and Coughlan, M.P. 1985. Isolation and characterization of the 1,4-β-D-glucan glucanohydrolases of Talaromyces emersonii. Biochem.J. 225 : 365-374.

Mukhopadhyay, S.N., and Malik, R.K. 1980. Increased production of cellulase by Trichoderma sp. by pH cycling and temperature profiling. Biotechnol.Bioeng. 22 : 2237.

Mukhopadhyay, S.N., Ghose, T.K., and Fiechter, A. 1979. Effect of fermentation variables on cellulase production by Trichoderma sp. Biotechnol.Lett. 1 : 205.

Murao, S., Kanamoto, J., and Arai, M. 1979. Isolation and identification of a cellulolytic enzyme producing microorganism. J.Ferment.Technol. 57 : 151.

Nakamura, K., and Kitamura, K. 1985. Process for production of cellulase. US. Patent 4496656.

Nakayama, M., Tomita, Y., Suzuki, H. and Nisizawa, K. 1976. Partial proteolysis of some cellulase components and the substrate specificity of the modified products. J.Biochem. (Tokyo), 79 : 955-966.

NG, T.K., Weimer, P.J., and Zeikus, J.G. 1977. Cellulolytic and physiological properties of Clostridium thermocellum. Arch. Microbiol. 114 : 1.

Nisizawa, K. 1971(b). "De novo" synthesis of cellulase induced by sophorose in Trichoderma viride cells. J.Biochem. 70 : 387-393.

_____. 1973. Mode of the action of cellulases. J.Ferment. Technol. 51(4) : 267-304.

_____., Suzuki, H., Nakayama, M., and Nisizawa, K. 1971(a). Inductive formation of cellulase by sophorose in Trichoderma viride. J.Biochem. 70 : 375-385.

Norkrans, B. 1967. Cellulose and cellulolysis. In. W.W. Umbreit. (ed.), Adv.Appl.Microbiol. 9 : 91-130.

Ooshima, H., Ishitani, Y., and Harano, Y. 1985. Simultaneous sacchari fication and fermentation of cellulose effect of ethanol on enzymatic saccharification of cellulose. Biotechnol. Bioeng. 27 : 389-397.

Persson, I., Tjerneld, F., and Hahn-Hager-Dahl, B. 1984. Semicontinuous cellulase production in an aqueous two-phase system with Trichoderma reesei Rutgers C 30. Enzyme Microb.Technol. 6 : 415.

Petterson, N. 1975. Production of cellulase and protein from barley straw by Trichoderma viride. Biotechnol.Bioeng. 17(3) : 361-374.

Prescott, S.C., and Dunn, C.G. 1959. Industrial Microbiology, 3 rd ed. (Tokyo : Kogakusha Ltd., 1959), p 900.

Poineelot, R.P., and Day, P.R. 1972. Simple Dye release Assay for determining cellulolytic activity of fungi. Appl. Microbiol. 23(5) : 875-879.

Rapp, P., Grote, E., and Wagner, F. 1981. Formation and location of 1,4-β-glucanases and 1,4-β-glucosidases from Penicillium janthinellum. Appl.Environ.Microbiol. 41 : 857.

Reese, E.T. 1972. Enzyme production from insoluble substrates. Biotechnol.Bioeng.Symp. 3 : 43.

_____., and Mandels, M. 1980. Stability of the cellulase of Trichoderma reesei under use conditions. Biotechnol. Bioeng. 22(2) : 323-335.

_____., and Mandels, M. 1984. Rolling with the times : Production and applications of Trichoderma reesei cellulase. In G.T. Tsao. (ed.), Annual Reports on Fermentation Processes. 7 : 1-20. Academic Press, New York.

_____., and Ryu, D.Y. 1980. Shear inactivation of cellulase of T. reesei. Enzyme.Microb.Technol. 2 : 239.

_____ ., Siu, R.G.H., and Levinson, H.S. 1950. The biological degradation of soluble cellulose derivatives . J. of Bacteriology. 59 : 485-497.

Robinson,P.D. 1984. Cellulase and xylanase production by Trichoderma reesei Rutc-30. Biotechnol. Lett. 6 : 119.

Rockwell, P.J. 1976. Sources and characteristics of cellulose, In. P.J. Rockwell. (ed.), Single cell proteins from cellulose and hydrocarbons, pp. 4-16. Noyes. data corporation, New Jersey.

Ross, A., Schugerl, K., and Scheiding, W. 1983. Cellulase production by Trichoderma reesei. Eur.J.Appl.Microbiol. Biotechnol. 18 : 29.

Rovau, X., and Odier, E. 1986a. Production of extracellular enzyme by the white-rot fungus Dichomitus squalens in cellulose-containing liquid culture. Enzme.Microb.Technol. 8 : 22.

Ryu, D., Andreotti, R., Mandels, M., Gallo, B., and Reese, E.T. 1979. Studies on quantitative physiology of Trichoderma reesei with two stage continuous culture for cellulase production. Biotechnol.Bioeng. 21 : 1987.

Ryu, D.D.Y., and Mandels, M. 1980. Cellulases biosynthesis and application. Enzyme Microbe.Technol. 2 : 91.

Saddler, J.N., Brownell, H.H., Clermont, L.P., and Levitin, N. 1982. Enzymatic hydrolysis of cellulose and various pretreated wood fractions. Biotechnol.Bioeng. 24 : 1389.

Sata, M., and Takahashi, H. 1967. Fermentation of C^{14}-labeled cellobiose. Agr.Biol.Chem. 31(4) : 470-474.

Selby, K., and Maitland, C.C. 1971. The cellulases of Trichoderma viride : separation of the components involved in the solubilization of cotton. Biochem.J. 104 : 716-724.

Sen, S., Abraham, T.K.,and Chakrabarty. 1982. Characteristics of the cellulose produced by Miceliopthora thermophila D-14. Canadian Journal of Microbiology. 28 : 271-277.

Shoemaker, S.P. and Brown. 1978. Enzymic activities of endo-1,4- β - D glucanases purified from Trichoderma viride. Biochimica. Biophysica. Acta. 523 : 133-146.

_____., Raymond, J.C., and Bruner, R. 1981. Cellulases : iversity amongst improved Trichoderma strains. In A. Hollaender et al., (eds.), Trends in the Biology of Fermentations for Fuels and Chemicals.. pp. 89-109. Plenum Press, New York.

Sih, C.J., Melson, N.M. and McBee, R.H. 1959. Biological system of cellobiose. Science 126 : 1116-1117.

Siu, R.G.H., and Reese, E.T. 1953. Decomposition of cellulose by microorganism. Botanical Review. 19 : 377-416.

Skinner, W.A., and Tokuyama, F. 1978. Production of cellulase by a thermophillic Thielavia terrestris. US Patent 4081328.

Spano, L.A. 1976. Enzymatic hydrolysis of cellulosic materials, In H.G. Schleged and J. Barnea. (eds.), Proceeding Seminar on Microbial enzyme Conversion., Gotingen (Federal Republic of Germany) 4^{th} - 8^{th} pp. 157-177.

Sternberg, D. 1976. Production of cellulase by Trichoderma. Biotechnol.Bioeng.Symp. No. 6 : 35-54.

Sternberg, D. 1976a. Production of cellulase by Trichoderma . In E.L.Gaden, M.H. Mandels, E.T. Reese., and L.A. Spano,(eds.), Enzymatic Conversion of Cellulosic Materials : Technology and Applications. Biotechnol.Bioeng.Symp. No. 6 : 35-53, Wiley-Interscience, New York.

_____., and Mandels, G.R. 1980. Improved Staphylococcus medium no. 110 : Regulation of the cellulolytic system in Trichoderma reesei by sophorose : Induction of cellulase and Repression of β-glucosidase. J. Bacteriol. 144 : 1197-1199.

Stevens, B.J.H., and Payne, J. 1977. Cellulase and Xylanase production by yeasts of the genus Trichosporon. J.Gen. Microbiol. 100 : 381.

Stutzenberger,F.J., Kaufman,A.J.,and Lossin, R.D. 1970. Cellulolytic activity in multicipal solid waste compositing. Canadian J. of Microbiology. 16 : 553-560.

Sudo, T., Nagayama, H., and Tamari, K. 1973. Occurrence and some properties of cellulase in the filtrates of conidiospores and mycelia of Pyricularia oryzae cavara. Agr.Biol.Chem. 37(7) : 1651-1659.

Suzuki, H., Yamane, K.; and Nisizawa, K. 1969. Extracellular and cell-bound cellulase components of bacteria. In. R.F. Gould. (ed.).

Synder, H.E. 1970. Microbial source of protein. In. C.O. Chichester, E.M. Mark, and G.F. Stewart. (eds.), Advances in Food Research 18 : 85-140. Academic Press Inc., New York.

Takao, S., Kamagata, Y., and Sasaki, H. 1985. Cellulase production by Penicillium purpurogenum. J.Ferment.Technol. 63 : 127.

Tanaka, M., Taniguchi, M., Mosinaga, T., Matsuno R., and Kamikubo, T. 1980. Cellulase productivity of Eupenicillium javanicum. J.Ferment.Technol. 58(2) : 149-154.

_____., Takenawa, S., Matsuno, R., and Kamikubo, T. 1977. Purification and properties of cellulases from Pellicularia filamentosa. J.Ferment.Technol. 55(2) : 137-142.

Tangnu, S.K. 1982. Process development of ethanol production based on enzymatic hydrolysis of cellulosic biomass. Process Biochemistry. May / June : 36-49.

_____., Blanch, H.W., and Wilke, C.R. 1981. Enhanced production of cellulase, hemicellulase and β-glucosidase by Trichoderma reesei (Rut-30). Biotechnol.Bioeng. 23 : 1837.

Taylor, M.J., and Richardson, T. 1979. Adv. Appl. Microbiol. 25 : 7.

Tong, C.C., Cole, A.L., and Shepherd, M.G. 1980. Purification and properties of the cellulases from the thermophillic fungus Thermonascus aurantiacus. Biochem.J. 191 : 83.

Toyama, N. 1976. Feasibility of sugar production from agricultural and urban cellulosic wastes with Trichoderma viride cellulases. Biotechnol.Bioeng.Symp. 6 : 207-219.

Toyama, N. and Ogawa, K. 1978. Cellulase production of Trichoderma viride in solid and submerged culture methods. In T.K. Ghose. (ed.)., Bioconvers.Cellul.Subst.Energy Chem.Microb. Protein Symp.Proc (1 st) 1977 (Publ. 1978) pp. 305-327. Indian Institute of Technology, New Delhi.

Trivedi, S.M., and Desai, J.D. 1984. Cellulase and β-glucosidase production by mix shake cultivation of Scytalidium lignicola and Trichoderma longibrachiatum. J. Ferment. Technol. 62:211

Trivedi, L., and Rao, K.K. 1979. Production of cellulolytic enzymes by Aspergillus fumigatus. Indian.J.Exp.Biol. 17 : 671.

Vidmar, S., Turk, V., and Kregar, I. 1984. Cellulolytic complex of Aspergillus niger under condition for citric acid production. Isolation and characterization of two β-1,4-glucanhydrolases Appl. Microbiol. Biotechnol. 20 : 326.

Warzywoda, M., Ferre, U., and Pourquie, J. 1983. Development of a culture medium for large production of cellulolytic enzymes by Trichoderma reesei. Biotechnol.Bioeng. 25 : 3005.

Wase, D.A.J., McManamey, W.J., Raymahasay, S., and Vaid, A.K. 1985a. Comparisions between cellulase production by Aspergillus fumigatus in agitated vessels and in air lift fermentor. Biotechnol.Bioeng. 27 : 1166.

_____., Vaid, A.K., and Mc. Dermott, C. 1985b. Increase in endo-1,4- β -D glucanase titres produced by Aspergillus fumigatus through application of a simple statistical method. Enzyme. Microb. Technol. 7 : 134.

Wood, T.M. 1968. Cellulolytic enzyme system of Trichoderma koningii. Separation of components attacking native cotton. Biochem.J. 109 : 217-229.

_____. 1972. The C_1-component of the cellulase complex. In. G. Terui. (ed.). Ferment.Technol. pp. 711-718. Today,Proc. IV IFS. Japan Osaka.

_____. 1981. Enzyme interactions involved in fungal degradation of cellulosic materials. Proceeding The Ekman Days International Symposium on Wood Pulping Chemistry, Vol. 3, SPCI, Stockholm, Sweden, pp. 31-38.

_____., and McCrae, S.I. 1972. The purification and properties of the C_1- component of Trichoderma koningii cellulase. Biochem.J. 128 : 1183-1192.

_____. 1978. The cellulase of Trichoderma koningii. Biochemical J. 171 : 61-72.

_____. 1979. Synergism between enzymes involved in the solubilisation of native cellulose. Adv.Chem.Ser. 181. 1978 (Publ. 1979). Quoted in Hydrolysis of Cellulose, Mechanisms of Enzymatic and Acid Catalysis. pp. 181-209. American Chemical Society, Washington, D.C.

_____., Wilson, C.A., Bhat, K.M., and Gow, L.A. 1988. Aerobic and anaerobic fungal cellulases, with special reference to their mode of attack on crystalline cellulose. In J.P. Aubert., P. Beguin., and J. Millet (eds.), Biochemistry and Genetics of Cellulose Degradation. Academic Press, New York.

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก I

วิธีการตรวจหาปริมาณเซลลูเลส (Method for cellulase determination)

การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเซลลูเลสทำได้หลายวิธีคือ

1. การวิเคราะห์หาปริมาณเซลลูเลสโดยใช้กระดาษกรอง (filter paper assay for complete cellulase activities) เป็นการหาปริมาณเซลลูเลสตามวิธีของ Mandels และ Reese (1976) วิธีทำ นำสารละลายเซลลูเลสที่ต้องการทดสอบ 0.5 มิลลิลิตร เติมลงในซิเตรทบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.8 จำนวน 1 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุในหลอดทดลองขนาด 18 มิลลิลิตร ใส่แผ่นกระดาษกรองหนัก 50 มิลลิกรัม แล้วนำไปเขย่าโดยเครื่องหมุนปั่น (vortex mixer) จากนั้นนำไปอบ (incubate) ที่ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบแล้วเติมสารละลายไดไนโตรซาลิซัยลิกจำนวน 3 มิลลิลิตร (Miller,1959) ซึ่งประกอบด้วยกรด 3,5 ไดไนโตรซาลิซัยลิก ร้อยละ 1 ฟีนอลร้อยละ 0.2 โซเดียมซัลไฟต์ร้อยละ 0.05 โซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1 โซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 20 โดยสารละลายดังกล่าวจะทำหน้าที่เป็นตัวหยุดปฏิกิริยา จากนั้นนำหลอดทดลองที่มีสารครบไปต้มเดือดเป็นเวลานาน 5 นาที แล้วเติมน้ำกลั่น 16 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้เครื่องตรวจวัดการดูดกลืนแสงชนิดสเปคโทรนิค 20 (spectronic 20) ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เปรียบเทียบการดูดกลืนแสงกับหลอดที่ไม่ใส่กระดาษกรอง นำค่าที่วัดได้ไปหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้กราฟมาตรฐานที่ได้จากการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ของสารละลายกลูโคสจำนวน 100 - 3,000 กรัมใน 0.05 โมลาร์ ซิเตรทบัฟเฟอร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.8 จำนวน 1 มิลลิลิตร โดยวิธีทดสอบเดียวกัน

หน่วยของเอนไซม์คือจำนวนไมโครโมลกลูโคสที่เกิดขึ้นต่อนาที

2. การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส
(C_x activity, Carboxymethylcellulase)

สารละลายเอนไซม์ (เอนไซม์ในบัฟเฟอร์) 0.5 มิลลิลิตร เติมลงในคาร์บอกซีเมทธิลเซลลูโลสร้อยละ 1 ใน 0.05 โมลาร์ซิเตรทบัฟเฟอร์ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.8 จำนวน 0.5 มิลลิลิตร นำเข้าตู้อบ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที เติมสารละลายไดไนโตรซาลิซัยลิก 3 มิลลิลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยานำไปเขย่าในน้ำเดือดนาน 5 นาที หลังจากตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่องสเปคโทรนิค 20 ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับหลอดที่ใช้น้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร (ใช้แทนสารละลายเอนไซม์) หาปริมาณกลูโคสที่ผลิตได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส

หน่วยเอนไซม์คือจำนวนไมโครโมลกลูโคสที่เกิดขึ้นภายใน 1 นาที

ในอีกวิธีหนึ่ง สามารถตรวจหาปริมาณคาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสโดยวัดความหนืดของคาร์บอกซีเมทธิลเซลลูโลส (carboxymethylcellulose) ร้อยละ 1 ใน 0.01 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จำนวน 9 มิลลิลิตร ที่เปลี่ยนแปลงไปโดยสารละลายเอนไซม์ 1 มิลลิลิตร ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เปรียบเทียบกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องตรวจวัดความหนืดชนิดออสวาว์ด (oswald no. 3)

หน่วยของเอนไซม์คำนวณได้จากการเปลี่ยนแปลงความหนืดในเวลา 1 นาที โดยเอนไซม์ที่ใช้ทดสอบ 1 มิลลิลิตร

คำนวณจาก $U = (1/S) - (1/U) / (1/5)$

U = หน่วยของเอนไซม์

S = เวลาที่สารละลายคาร์บอกซีเมทธิลเซลลูโลสใช้ในการเคลื่อนที่ผ่านเครื่องวัดความหนืดชนิดออสวาว์ดหลังผสมกับเซลลูเลส (วินาที)

U = เวลาที่สารละลายคาร์บอกซีเมทธิลเซลลูโลสใช้ในการเคลื่อนที่ผ่านเครื่องวัดความหนืดชนิดออสวาว์ดหลังผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (วินาที)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. การวิเคราะห์หาปริมาณเบต้า-กลูโคซิเดส (β-glucosidase assay)

ตามวิธีของ Reese และ Mandel (1980) โดยใช้สารละลายเอนไซม์ 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับ ซาลิซิน (salicin) ร้อยละ 0.5 ใน 0.05 โมลาร์ ซิเตรทบัฟเฟอร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.8 จำนวน 0.5 มิลลิลิตร อบที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เติมสารละลายไดไนโตรซาลิซัยลิก 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มเดือดนาน 5 นาที ทิ้งให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง อ่านค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่องสเปคโทรนิค 20 ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับเมื่อใช้น้ำกลั่นหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสจากกราฟมาตรฐาน ของสารละลายกลูโคส

หน่วยเอนไซม์คือ จำนวนไมโครโมลกลูโคสที่เกิดขึ้นภายใน 1 นาที โดยเอนไซม์ 1 มิลลิลิตร

4. การวิเคราะห์หาปริมาณเซลลูเลสที่ใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลสรูปผลึก (Crystalline cellulose solubilizing activity, CCSA, C_1 assay)

Tanaka และเพื่อน (1980) ใช้ผงเซลลูโลสร้อยละ 1.1 (น้ำหนัก/ปริมาตร) แขวนตะกอนใน 0.2 โมลาร์ อะซิเตรทบัฟเฟอร์ ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5 จำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายเอนไซม์ 1 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เขย่าตลอดเวลาที่บ่ม ครบกำหนดเวลานำไปปั่นแยกเซลลูโลสที่เหลือ นำส่วนใสไปตรวจหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้สารละลายไดไนโตรซาลิซัยลิก

หน่วยเอนไซม์แสดงเป็น จำนวนมิลลิกรัมกลูโคสที่เกิดขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง โดยใช้เอนไซม์ 1 มิลลิลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

1. ลาวรีโปรตีน (Lowry-protein, L-protein)

โปรตีนในรูปสารละลายนำมาตกตะกอนด้วยอะซิโตนในอัตราส่วน 1:3 โดยปริมาตร นำตะกอนที่ได้ไปละลายในอะซิเตรทบัฟเฟอร์ ใช้ 0.5 มิลลิลิตรผสมกับ 5 มิลลิลิตรของสารละลายผสมระหว่าง คอปเปอร์ซัลเฟต เพนตะไฮเดรต ร้อยละ 2 จำนวน 1 มิลลิลิตร โซเดียมตาเตรต ร้อยละ 4 จำนวน 1 มิลลิลิตร และโซเดียมคาร์บอเนต ร้อยละ 3 ใน 0.1 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ 98 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติม 0.5 มิลลิลิตร Folin-ciacalteas phenol reagent ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับน้ำกลั่นโดยใช้ Pye-unicam Spectrophotometre หาปริมาณโปรตีนจากกราฟมาตรฐานของสารละลายอัลบูมินจากพลาสมาวัว (Standard bovine plasma albumin)

2. เค-โปรตีน (K-protein, Kjeldahl protein)

ปริมาณโปรตีนทั้งหมดของกระจุกใยเชื้อรา อาจประมาณจากจำนวนไนโตรเจนทั้งหมด (Kjeldahl) คูณด้วย 6.25 (Bressani, 1968; Synder, 1970)

3. จำนวนไนโตรเจนทั้งหมด (Total nitrogen)

สามารถหาได้โดยใช้วิธี micro-Kjeldahl ของ McKenize และ Wallace (1954) โดยใช้สารละลายเมอคิวริคซัลเฟต (เมอคิวริค ออกไซด์ 10 กรัมใน 4 นอร์แมล กรดซัลฟุริค 100 มิลลิลิตร) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์-โซเดียมไธโอซัลเฟต หรือสารละลายด่างกัดกร่อน (caustic alkaline solution : โซเดียมไฮดรอกไซด์ 200 กรัม โซเดียมไธโอซัลเฟต เพนตะไฮเดรต 12.5 กรัม ละลายในน้ำ 500 มิลลิลิตร) ใช้ตัวบ่งชี้ชนิด เมทธิล-เรด-เมทธิลลีน-บลู (methyl-red-methylene blue mixed indicator : เมทธิล-เรด ร้อยละ 0.2 ใน เอทธานอลร้อยละ 95 2 ส่วน ผสมกับ เมทธิลลีนบลูร้อยละ 0.2 ใน เอธานอลร้อยละ 95 1 ส่วน) ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้ สารละลายกรดบอริค (กรดบอริค 10 กรัม ค่อย ๆ ละลายในน้ำจนมีปริมาตรรวม 500 มิลลิลิตร) ใช้สารละลายกรดซัลฟุริค 0.004 นอร์แมลเป็นสารไตเตรท

ตัวอย่างควรประกอบด้วยไนโตรเจนระหว่าง 0.3 - 1.0 มิลลิกรัม ใส่สารตัวอย่างลงในขวดกรวยชนิดพิเศษ (micro-Kjeldahl flask) ขนาด 30 มิลลิลิตร เติม 3 นอร์แมลกรดซัลฟุริค 1.5 มิลลิลิตร โปตัสเซียม ซัลเฟต 1.5 กรัม และสารละลายเมอคิวริค ซัลเฟต 0.5 มิลลิลิตร นำไปย่อยสลาย (digest) จนกระทั่งใส ทิ้งไว้ให้เย็นและทำให้เจือจางด้วยน้ำ ไนโตรเจนที่พบเป็นไนโตรเจนทั้งหมดในรูปของแอมโมเนียมซัลเฟต โดยเติมสารละลายกรดกัดกร่อน 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปกลั่นเพื่อเก็บแก๊สแอมโมเนียที่ระเหยออกมาในสารละลายกรดบอริค 5 มิลลิลิตร สังเกตได้จากการเปลี่ยนสีของตัวบ่งชี้ ที่เติมลงในสารละลายกรดบอริค แล้วหาจำนวนบอเรทโดยการไตเตรทด้วย 0.004 มอร์แมลกรดซัลฟุริค

คำนวณปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างแห้งได้จากสูตร

$$(a - b)\ N \times 100 \times 0.014 / C$$

a = จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายกรดซัลฟุริคที่ใช้ในการไตเตรทสารตัวอย่าง
b = จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายกรดซัลฟุริคที่ใช้ในการไตเตรทน้ำกลั่น
C = จำนวนกรัมของตัวอย่างที่ใช้
N = นอร์แมลริตี้ของกรดซัลฟุริคที่ใช้ไตเตรท

วิธีเตรียมสารละลายเพื่อใช้ในการทดลอง

<u>การเตรียมรีมาซอล บริลเลียนท์ บลู อาร์</u> ร้อยละ 0.6 (Remazol Brilliant Blue R 0.6 %) ละลาย Remazol Brilliant Blue R 15 กรัมในน้ำกลั่นเดือด 250 มิลลิลิตร

<u>การเตรียมโซเดียม ซัลเฟต</u> ร้อยละ 30 (Sodium Sulfate 30 %) ละลายโซเดียม ซัลเฟต 30 กรัม ในน้ำกลั่นเดือด 100 มิลลิลิตร

<u>การเตรียมไตรโซเดียม ฟอสเฟต</u> ร้อยละ 10 (Trisodium phosphate 10 %) ละลายไตรโซเดียม ฟอสเฟต 15 กรัมในน้ำกลั่นเดือด 150 มิลลิลิตร

การเตรียมโซเดียม ซิเตรท บัฟเฟอร์ (Sodium citrate buffer) ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.8 (0.05 โมลาร์)

เตรียม

1. ละลายกรดซิตริค 21.01 กรัมในน้ำ 1000 มิลลิลิตร (0.1 โมลาร์)
2. ละลายโซเดียมซิเตรท 29.41 กรัมในน้ำ 1000 มิลลิลิตร (0.1 โมลาร์)

ใช้สารละลายข้อ (1) จำนวน 23 มิลลิลิตร + สารละลายข้อ (2) จำนวน 27 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร จะได้บัฟเฟอร์ตามต้องการ

การเตรียม 2 N HCL เทกรดเกลือเข้มข้น (37% w/v) 16.6 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 83.4 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลายโซโมจิ (Somogyi solution)

1. คอปเปอร์ รีเอเจนต์ เอ (Copper reagent A)

ละลายโซเดียม คาร์บอเนต 25 กรัม โซเดียมโปแตสเซียมตาเตรท 25 กรัม โซเดียมไบคาร์บอเนต 20 กรัม โซเดียม ซัลเฟต 200 กรัม ในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร เมื่อละลายหมด ปรับให้มีปริมาตรทั้งหมดเป็น 1 ลิตร ถ้ามีตะกอนให้กรองก่อนใช้

2. คอปเปอร์ รีเอเจนต์ บี (Copper reagent B)

ละลายคอปเปอร์ซัลเฟต 15 กรัม ในน้ำให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ถ้าละลายไม่ดีให้เติมกรดซัลฟุริคเข้มข้น 2-3 หยด เพื่อช่วยในการละลาย

Somogyi (เตรียมเมื่อต้องการใช้เท่านั้น)

ผสม Copper reagent A 25 ส่วนกับ Copper reagent B 1 ส่วน

การเตรียมสารละลายเนลสัน (Nelson, Arsenomolybdate color reagent)

1. ละลายแอมโมเนียม โมลิบเดท 25 กรัมในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟุริคเข้มข้น 21 มิลลิลิตร
2. ละลาย $Na_2HASO_4.7H_2O$ 3 กรัม ในน้ำ 25 มิลลิลิตร
3. ผสมสารละลาย ข้อ (1) และ สารละลาย ข้อ (2) ให้เข้ากัน บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง แล้วเก็บในขวดสีน้ำตาลมีฝาปิด

สารละลายคาร์บอกซีเมทธิลเซลลูโลส

กระจายคาร์บอกซีเมทธิลเซลลูโลส 1 กรัมในโปแตสเซียม ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง = 6.8 จำนวน 100 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลายโปรตีน

1. เตรียมโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ร้อยละ 3 ใน 0.1 นอร์แมล โซเดียมไฮดรอกไซด์
2. เตรียมคอปเปอร์ซัลเฟต ร้อยละ 2 ในน้ำ ส่วนที่ไม่ละลายให้กรองออกทิ้งไป
3. เตรียมโซเดียม โปแตสเซียม ตาเตรท ร้อยละ 4 ในน้ำ
4. ใช้ 1 มิลลิลิตรของสารละลายในข้อ (2) ผสมกับ 1 มิลลิลิตรของสารละลายในข้อ (3) ทำให้ปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตรโดยสารละลายในข้อ (1) ใช้เป็นสารละลายโปรตีน

การเตรียมสารละลาย Folin Ciocalteus Phenol Reagent

ใช้สารละลาย Folin Ciocalteus Phenol Reagent (AR. Grade) 1 ส่วน ผสมน้ำ 2 ส่วนเตรียมขณะต้องการใช้

การเตรียม 0.2 โมลาร์ โปแตสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.8

1. ละลายไดโปแตสเซียม ไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) 8.709 กรัมในน้ำ 250 มิลลิลิตร
2. ละลายโปแตสเซียม ไดไฮโดรเจน ฟอสเฟต (KH_2PO_4) 6.804 กรัมในน้ำ 250 มิลลิลิตร
3. วางอิเล็กโทรดของเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ลงในสารละลาย (1) แล้วค่อย ๆ เติม สารละลาย ข้อ (2) ลงใน สารละลาย ข้อ (1) ผสมให้เข้ากัน ปรับให้ได้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ตามต้องการ
4. เก็บในตู้เย็น ก่อนใช้นำมาเจือจางด้วยน้ำให้มีความเข้มข้นเป็น 0.05 โมลาร์ตามต้องการ

การเตรียม 0.2 โมลาร์ โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์

1. ละลายโซเดียมไดไฮโดรเจน ฟอสเฟต (NaH_2PO_4) 23.996 กรัมลงในน้ำ 1000 มิลลิลิตร

2. ละลายไดโซเดียม ไฮโดรเจน ฟอสเฟต (Na_2HPO_4) 28.392 กรัมในน้ำ 1000 มิลลิลิตร

3. ผสมสารละลายข้อ (1) ลงในสารละลายข้อ (2) ทีละน้อย ค่อย ๆ วัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่างจนได้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ตามต้องการ

การเตรียมสารละลายเอคริลเลไมด์ (Acrylamide solution)

1. เอคริลเลไมด์ (acrylamide) 30 กรัม ผสมกับ N,N-methylene-bis acrylamide 0.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

2. กรองแล้วนำเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเตรียม 1.5 โมลาร์ ทริส-ไฮโดรคลอไรด์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 8.8 (1.5 M Tris-HCl pH 8.8)

1. ละลายทริส ไฮดรอกซีเมทธิล อะมิโนมีเทน 18.15 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร

2. เติมกรดไฮโดรคลอริค 1 - 2 นอร์แมล ทีละน้อยเพื่อปรับให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 8.8

3. ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

การเตรียม 0.5 โมลาร์ ทริส-ไฮโดรคลอไรด์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.8 (0.5 M Tris-HCl pH 6.8)

1. ละลายทริส ไฮดรอกซีเมทธิล อะมิโนมีเทน 3 กรัม ในน้ำ 30 มิลลิลิตร

2. ค่อย ๆ เติมกรดไฮโดรคลอริค 1 - 2 นอร์แมล เพื่อปรับให้มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.8

3. ปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

การเตรียม แอมโมเนียม เปอร์ซัลเฟต ร้อยละ 10 (Ammonium persulfate 10%)

ละลาย แอมโมเนียม เปอร์ซัลเฟต 1 กรัมในน้ำ 10 มิลลิลิตร

การเตรียม โซเดียม โดดีซิล ซัลเฟต ร้อยละ 10 (Sodium dodecyl sulfate 10%)

ละลาย โซเดียม โดดีซิล ซัลเฟต 10 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

การเตรียมเซพาเรทติ้ง เจล (Separating gel)

มีส่วนประกอบดังนี้ คือ
สารละลายเอคริลเลไมด์ (acrylamide solution) 9.0 มิลลิลิตร
ทริส-ไฮโดรคลอไรด์ 1.5 โมลาร์ (1.5 M Tris-HCl) 7.5 มิลลิลิตร
โซเดียม โดดีซิล ซัลเฟต ร้อยละ 10 (10% Sodium dodecyl sulfate) 0.3 มิลลิลิตร
แอมโมเนียม เปอร์ซัลเฟต ร้อยละ 10 (Ammonium persulphate 10%) 0.3 มิลลิลิตร
ทีเม็ด (Temed) 10 ไมโครลิตร
ปรับปริมาตรรวมทั้งหมดเป็น 30 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

การเตรียมทริส-ไกลซีน บัฟเฟอร์ ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8.3 (Tris-glycine buffer pH 8.3)

ส่วนประกอบ
ทริส ไฮดรอกซีเมทธิล อะมิโนมีเทน 3 กรัม
ไกลซีน (glycine) 14.4 กรัม
โซเดียมโดดีซิล ซัลเฟต ร้อยละ 10 (sodium dodecyl sulfate 10 %) 10 มิลลิลิตร
ปรับให้มีปริมาตร 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

การเตรียมบัฟเฟอร์ของเอนไซม์ที่ใช้ในการทดลองการเคลื่อนย้ายสู่ขั้วไฟฟ้า

ส่วนประกอบ

เมอร์แคบโตเอทธานอล ร้อยละ 50 (mercaptoethanol 50 %) 10 มิลลิลิตร

โซเดียมโดดีซิล ซัลเฟต ร้อยละ 20 (Sodium dodecyl sulfate 20 %) 10 มิลลิลิตร

ปรับให้มีปริมาตร 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

การเตรียมสารละลายสำหรับย้อมแผ่นเจลในการทดลองการเคลื่อนย้ายสู่ขั้วไฟฟ้า (Coomasie blue-R-250 solution)

ส่วนประกอบ

คูมาซี บลู อาร์ 250 (Coomasic blue R-250) 1.25 กรัม

เมทธานอล 227 มิลลิลิตร

กรดน้ำส้มล้วน 40 มิลลิลิตร

น้ำกลั่น 227 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลายสำหรับล้างแผ่นเจลในการทดลองการเคลื่อนย้ายสู่ขั้วไฟฟ้า

ส่วนประกอบ

เมทธานอล 100 มิลลิลิตร

กรดน้ำส้มล้วน 75 มิลลิลิตร

น้ำกลั่น 825 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลายสำหรับทดสอบ ผลของสารเคมีที่มีต่อการทำงานของเซลลูเลส ดังนี้

2-mercaptoethanol $HSCH_2CH_2OH$ น้ำหนักโมเลกุล 78.13 ความเข้มข้น 60 mM เตรียมโดยใช้ 0.05 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร

Dithiothreitol (DTT) $C_4H_{10}O_2S_2$ น้ำหนักโมเลกุล 154.25 ความเข้มข้น 60 mM เตรียมโดยใช้ 0.0093 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร

p-chloromercuribenzoic acid $ClHgC_6H_4COOH$ น้ำหนักโมเลกุล 357.16 ความเข้มข้น 6 mM เตรียมโดยใช้ 0.0214 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร

Magnesium chloride $MgCl_2.6H_2O$ น้ำหนักโมเลกุล 203.30 ความเข้มข้น 60 mM เตรียมโดยใช้ 0.01219 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร

Mercuric chloride $HgCl_2$ น้ำหนักโมเลกุล 271.50 ความเข้มข้น 60 mM เตรียมโดยใช้ 0.0163 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร

Iodoacetamide CH_2ICONH_2 น้ำหนักโมเลกุล 184.96 ความเข้มข้น 600 mM เตรียมโดยใช้ 0.111 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางสาว ชุลีพร จูงสาย เกิดวันที่ 15 พฤศจิกายน พ.ศ. 2503 ที่อำเภอเมือง จังหวัดปราจีนบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีเภสัชศาสตรบัณฑิต เกียรตินิยมอันดับ 2 คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2525 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2532 ปัจจุบันทำหน้าที่วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่โรงงาน ดี.ซี. เภสัชกรรม อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย