

## รายการอ้างอิง

- A Driouich, AC Laine, B Vian, L Faye. 1992. Characterization and localization of laccase forms in stem and cell cultures of sycamore. Plant J 2:13-24.
- A Leontievsky, N Myasoedova, N Pozdnyakova, L Golovleva. 1997. Yellow laccase of *Panus tigrinus* oxidizes non-phenolic substrates without electron-transfer mediators. FEBS Lett 413:446-448.
- A Messerschmidt. 1975. Multi-Copper Oxidases. New Jersey: World Scientific.
- AI Yarapolov, OV Skorobogatko, SS Vartanov, SD Varfolomeyev. 1997. Laccase: properties, catalytic mechanism, and applicability. Appl Biochem Biotech 49:257-280.
- Bartosek I., Guaitani A., Modica R., Fiume M., and Urso R. 1984. Comparative kinetics of oral benz[*a*]anthracene, chrysene and triphenylene in rats. Study with hydrocarbon mixture. Toxicol Lett 23:333-339.
- Blanton R.H., Myers M.J., Bick P.H. 1988. Modulation of immunocompetent cell populations by benzo[*a*]pyrene. Toxicol Appl Pharmacol 93:267-274.
- Bolonova L.N. 1967. Action of naphthalene and its methyl derivatives on the ammonia content in rat brain. Farmakol Toksikol 30:484-486.
- CF Thurston. 1994. The structure and function of fungal laccases. Microbiol. 140:19-26.
- Chang L.H. 1943. The fecal excretion of polycyclic hydrocarbons following their administration to the rat. J Biol Chem 151:93-99.
- Cottini G.B. and Mazzone G.B. 1939. The effects of 3,4-benzpyrene on human skin. Am J Cancer 37:186-195.
- CR Perry, SE Matcham, DA Wood, CF Thurston. 1993. The structure of laccase protein and its synthesis by the commercial mushroom *Agaricus bisporus*. J Gen Microbiol 139:171-178.
- DiGiovanni J., Rymer J., and Slaga T.J. 1982. Anticarcinogenic and cocarcinogenic effects of benzo[*e*]pyrene and dibenz[*a,c*]anthracene on skin tumor initiation by polycyclic hydrocarbons. Carcinogenesis 3:371-375.

- DS Yaver, F Xu FJ Golightly, KM Brown, SH Brown, MW Rey, P Schneider, T Halkier, K Mondorf, H Dalboge. 1996. Purification, characterization, molecular cloning, and expression of two laccase genes from the white rot basidiomycete *Trametes villosa*. Appl Environ Microbiol 62:834-841.
- Eggert, C., Temp, U., and Eriksson, K. –E. L. 1996. The ligninolytic system of white rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus*: Purification and characterization of the laccase. Applied and Environmental Microbiology. 62(4):1151-1158.
- EI Solomon, UM Sundram, TE Machonkin. 1996. Multicopper oxidases and oxygenases. Chem Rev 96:2563-2605.
- F Xu. 1996. Oxidation of phenols, anilines, and benzenethiols by fungal laccases: correlation between activity and redox potentials as well as halide inhibition. Biochemistry 35:7608-7614.
- Forbes P.D., Davirs R.E., and Urbach F. 1976. Phototoxicity and Photocarcinogenesis: Comparative effects of anthracene and 8-methoxypsoralen in the skin of mice. Food Cosmet Toxicol 14:303-306.
- FS Sariaslani. 1989. Microbial enzymes of oxidation of organic molecules. In: GG Stewart, I Russel, eds. Crit Rev Biotech. Vol 9. Boca Raton: CRC Press, pp 171-257.
- G Bertrand. 1896. Sur la presence simultanee de la laccase et de la tyrosinase dans le sue quelques champignons. C R Hebd Seances Acad Sci 123:463-465.
- G Palmieri, P Giardina, C Bianco, A Scaloni, A Capasso, G Sannia. A novel white laccase from *Plerotus ostreatus*. J Biol Chem 272:31301-31307.
- Gaines T.B. 1969. Acute toxicity of pesticides. Toxicol Appl Pharmacol 14:515-534.
- GJ McDougall, D Stewart, IM Morrison. 1994. Cell-wall-bound oxidases from tobacco (*Nicotiana tabacum*) xylem participate in lignin formation. Planta 194:9-14.
- Grimmer G., Brune H., Dettbarn G., Heinrich U., Jakob J., Mohtashampur E., Norpoth K., Pott F., and Wenzel-Har Tung R. 1988. Urinary and faecal excretion of chrysene and chrysene metabolites by rats after oral, intraperitoneal, intratracheal or intrapulmonary application. Arch Toxicol 62: 401-405.
- Harkin, J. M. and Obst, J. R. 1973. Syringaldazine, an effective reagent for detecting laccase and peroxidase in fungi. Experimentia. 29(4):381-387.

- Hecht S.S., Grabowski W., and Groth K. 1979. Analysis of faeces for benzo[a]pyrene after consumption of charcoal-broiled beef by rats and humans. Food Cosmet Toxicol 17:223-227.
- Heitkamp, M.A., Freman, J.P. and Cerniglia, C.E. 1987. Naphthalene Biodegradation in environmental microcosms: Estimates of degradation rates and characterization of metabolism. Appl. Environ. Microbiol. 53(1):129-136.
- IARC. 1999. Overall Evaluations of Carcinogenicity of Humans. International Agency for Research on Cancer. <http://193.51.164.11/monoeval/erthall.html>. Last updated: 20 January 1999.
- IPCS. 1998. Environmental Health Criteria 202. Selected Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. The International programme on Chemical Safety. World Health Organization. Geneva, Switzerland.
- ITII. 1982. Toxic and Hazardous Industrial Chemicals Safety Manual. Tokyo, Japan: The International Technical Information Institute:46.
- Iwata K., Inui N., and Takeuchi T. 1981. Induction of active melanocytes in mouse skin by carcinogens: A new method for detection of skin carcinogens. Carcinogenesis (London) 2:589-594.
- J Laborde. 1896. Sur laccase des vins. C R Hebd Seances Acad Sci 123:463-465.
- Jacoud C, Faure D, Effosse A, Wadoux P and, Bouillant ML. 1995. Laccase activity in *Azospirillum lipoferum*: substrates and inhibitors. In: I Fendrik, M Del Gallo, J Vanderleyden, M Zamaroczy, eds. *Azospirillum VI and Related Microorganisms: Genetics-Physiology-Ecology*, NATO ASI Series, Vol G37. Berlin: Springer-Verlag, pp 341-345.
- Johnnes C, Majcherczyk A, and Hutterman A. 1996. Degradation of anthracene by laccase of *Trametes versicolor* in the presence of different mediator compounds. Appl Microbiol Biotechnol. 46:313-317.
- Jones, P.W. 1980. Measurement and environmental impact of PAH-some closing remarks. In Polynuclear Aromatic Hydrocarbons Chemistry and Biological Effects. BjOrseth, A. and Dennis, A.J. (eds.). Battelle Press. Ohio. Pp. 1085-1090

- Ko E.-M., Leem Y.-E. and Choi H. T. 2001. Purification and characterization of laccase isozyme from the white-rot basidiomycete *Ganoderma lucidum*. Microbial Physiology Lab. Division of Life Science, Kangwon National University. Chunchon 200-701.
- Kochevar I.E., Armstrong R.B., Einbinder J., Walther R.R., and Harber L.C. 1982. Coal tar phototoxicity: Active compounds and action spectra. Photochem Photobiol 36:65-69.
- Lau H.H. and Baird W.M. 1992. The co-carcinogen benzo[*e*]pyrene increases the binding of a low dose of the carcinogen benzo[*a*]pyrene to DNA in SENCAR mouse epidermis. Cancer Lett (Ireland) 63:229-236.
- M Coll, P Perez, E Villar, VL Shnyrov. 1994. Domain structure of laccase 1 from the lignin-degrading basidiomycete PM1 revealed by differential scanning calorimetry. Biochem Mol Biol Int 34:1091-1098.
- M Mansur, T Suarez, JB Fernandez-Larrea, MA Brizuela, AE Conzales. 1997. Identification of a laccase gene family in the new lignin-degrading basidiomycete CECT-20197. Appl Environ Microbiol 63:2637-2646.
- MacKenzie K.M. and Angevine D.M. 1981. Infertility in mice exposed in utero to benzo[*a*]pyrene. Biol Reprod 24:183-191.
- Manahan, S.E. 1993. Reduction, Treatment, and Disposal of Hazardous waste. In Fundamentals of Environmental Chemistry. Manahan, S.E.(ed). Lewis Publisher. pp. 689-720
- MC DePinto, AR Barcelo. 1996. Inhibition of both peroxidase and laccase by desferal (desferrioxamine mesylate). Phytochemistry 42:283-286.
- Montizaan G.K., Kramers P.G.H., Janus J.A., and Posthumus R. 1989. Integrated criteria document PAH: Effects of 10 selected compounds. Appendix to Report No. 7584740114. Bilthoven, National Institute of Public Health and Environmental Protection, 180 pp (Republication in March 1989 of addendum to Report No. 758447007).
- Neubert D. and Tapken S. 1985. Transfer of benzo[*a*]pyrene into mouse embryos and fetuses. Arch Toxicol 62:236-239.
- Nishida, T., Kashino, Y., Nakayama, T., Mimura, A., and Takahara, Y. 1989. Lignin biodegradation by wood-rotting fungi. R&D Kobe Steel Engineering Report. 39(4):97-100.

- Patnaik and Pradyot. 1992. Hydrocarbon, Aromatic. In A Comprehensive Guide to The Hazardous Properties of Chemical Substances. Patnaik, P. (ed). Van Nostrand Reinhold. New York. pp. 441-443.
- Pickard M.A., Roman R., Tinoco R., and Duhalt V. 1999 Polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism by white rot fungi and oxidation by *Coriolopsis gallica* UAMH 8260. Applied and Environmental Microbiology, 65 (9):3805-3809.
- Plasterer M.R., Bradshaw W.S., Booth G.M., Carter M.W., Schuler R.L., and Hardin B.D. 1985. Developmental toxicity of nine selected compounds following prenatal exposure in the mouse: Naphthalene, *p*-nitrophenol, sodium selenite, dimethylphthalate, ethylenethiourea, and four glycol ether derivatives. J Toxicol Environ Health 15:25-38.
- Plopper C.G., Suverkropp C., Morin D., Nishio S., and Buckpitt A. 1992. Relationship of cytochrome P-450 activity of Clara cell cytotoxicity. I. Histopathologic comparison of the respiratory tract of mice, rats and hamsters after parenteral administration of naphthalene. J Pharmacol Exp Ther 261:353-363.
- Rice J.E., Hosted T.J., DeFloria M.C., La Voie E.J., Fischer D.L., and Wiley J.C. 1986. Tumor-initiating activity of major *in-vivo* metabolites of indeno[1,2,3-*cd*]pyrene on mouse skin. Carcinogenesis 7:1761-1764.
- Rigdon R.H. and Neal J. 1965. Effects of feeding benzo[*a*]pyrene on fertility. Embryos, and young mice. J Natl Cancer Inst 34:297-305.
- Rodriguez E, Pickard M.A, Vasquez-Duhalt R. 1999. Industrial dye decolorization by lacasses from ligninolytic fungi. Curr Microbiol. 38:27-32.
- Salamone M.F. 1981. Toxicity of 41 carcinogens and noncarcinogenic analogs. In: De Serres F.J., and Ashby J editors. Evaluation of Short-term Tests for Carcinogens. Report of the International Collaborative Programme. Amsterdam, Elsevier North-Holland, pp 682-685 (Progress in Mutation Research, Volume 1).
- Sax N.I. and Lewis J.R. Sr. 1984. Dangerous Properties of Industrial Materials. Seventh edition. New York, Van Nostrand Reinhold Co, pp 2451-2452.
- Shopp G.M., White K.L.Jr., Holsapple M.P., Barnes D.W., Duke S.S., Anderson A.C., Condie L.W.Jr., Hayes J.R., and Borzelleca J.F. 1984. Naphthalene toxicity in CD-1 mice: General toxicology and immunotoxicology. Fundam Appl Toxicol 4:406-419.

- Simmon V.F., Rosenkranz H.S., Zeiger E., and Poirier L.A. 1979. Mutagenic activity of chemical carcinogens and related compounds in the intraperitoneal host-mediated assay. J Natl Cancer Inst 62:911-918.
- Singha B.K. and Chignell C.F. 1983. Binding of anthracene to cellular macromolecules in the presence of light. Photochem Photobiol 37:33-37.
- Smyth H.F., Carpenter C.P., Well C.S., Pozzani U.C., and Striegel J.A. 1962. Range-finding toxicity data: List VI. Ind Hyg J March-April, 95-107.
- T Kreuter., A Stuedel, H Pickert. 1991. On the inhibition of laccase by lower fatty acids. Acta Biotechnol 11:81-83.
- Topping D.C., Pal B.C. Martin D.H., Nelson F.R., and Nettesheim P. 1978. Pathologic changes induced in respiratory tract mucosa by polycyclic hydrocarbons of differing carcinogenic activity. Am J Pathol 93:311-324.
- Torronen R., Nousiainen U., and Hanninen O. 1981. Induction of aldehyde dehydrogenase by polycyclic aromatic hydrocarbons in rats. Chem Biol Interact 36:33-34.
- U.S. EPA 1988. Code of Federal Regulations. 40 CFR 372.65. U.S. Environmental Protection Agency. Washington D.C., US.
- U.S. EPA 1989a. Designation, Reportable Quantities, and Notification. Code of Federal Regulations. 40 CFR 302.44. U.S. Environmental Protection Agency. Washington D.C., US.
- U.S. EPA 1989b. Subchronic Toxicity in Mice with Anthracene. Final Report. U.S. Environmental Protection Agency. Hazelton Laboratories America, Inc. Prepared for the Office of Solid Waste, Washington D.C., US.
- U.S. EPA 1989c. Mouse Oral Subchronic Toxicity Study with Acenaphthene. Washington D.C., US 89 pp.
- U.S. EPA 1998. Toxicological Review of Naphthalene. (CAS No. 91-20-3).  
<http://www.epa.gov/iris>
- U.S.DHHS 1995. Toxicological Profile for Polycyclic aromatic Hydrocarbons. US. Department of Health and Human Service.
- U.S.EPA 1978. Ambient Water Quality Criteria: Naphtahlene. U.S. Environmental Protection Agency. Washington D.C., US.

- Van Duuren B.L., Langseth L., and Goldschmidt B.M. 1967. Carcinogenic activity. J Natl Cancer Inst 39:1217-1227.
- W Bao, DM O'Malley, R Whetten, R R Sederhof. 1993. A laccase associated with lignification in loblolly pine xylem. Science 260:672-674.
- W Cai, R martin, B Lemaure, JL Leuba, V Petiard. 1993. Hydroxyindoles: a new class of laccase substrates. Plant Physiol Biochem 31:441-445.
- Warren D.L., Brown D.R.Jr., and Buckpitt A.R.1982. Evidence for cytochrome P-450 mediated metabolism in the bronchiolar damage by naphthalene. Chem-Biol Interactions 40:287-303.
- Weyand E.H. and Bevan D.R. 1987. Species differences in disposition of benzo[a]pyrene. Drug Metab Disposition 15:442-448.
- Withey J.R., Law F.C.P., and Endrenyi L. 1991. Pharmacokinetics and bioavailability of pyrene in the rat. J Toxicol Environ Health 32:429-447.
- Wolff M.S. Herbert R., marcus M., River M., Landrigan P.J., and Andrews L.R. 1989. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) residues on skin in relation to air levels among roofers. Arch Environ Health 44:157-163.
- Yamazaki H., Terada M., and Tsuboi A., Matsubara C., Hata T., and Kakiuchi Y. 1986. Distribution and binding pattern of benzo[a]pyrene in rat liver, lung and kidney constituents after oral administration. Toxicol Environ Chem 15:71-81.
- Yoshida,H. 1883. Chemistry of lacquer (Urushi). part 1. J Chem Soc 43:472-486.
- Zhao Z.H., Quan W.Y., and Tian D. 1990. Urinary 1-hydroxypyrene as an indicator of human exposure to ambient polycyclic aromatic hydrocarbons in a coal-burning environment. Sci Total Environ 92:145-154.

ภาคผนวก



## ภาคผนวก ก

### Potato dextrose agar (PDA)

#### มีองค์ประกอบดังนี้

|                |     |      |
|----------------|-----|------|
| มันฝรั่ง       | 200 | กรัม |
| น้ำตาลเด็คโตรส | 20  | กรัม |
| วุ้น           | 20  | กรัม |
| น้ำกลั่น       | 1   | ลิตร |

ต้มมันฝรั่งซึ่งล้างสะอาดแล้ว และหั่นเป็นลูกเต๋ารายขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ในน้ำกลั่น ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จนสุก แล้วกรองแยกน้ำมันฝรั่งออกมาด้วยผ้าขาวบาง เติมน้ำตาลเด็คโตรส และวุ้นลงไป อุ้นต่อ คนจนวุ้นละลายหมด จึงเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

### Potato dextrose broth (PDB)

#### มีองค์ประกอบดังนี้

|                |     |      |
|----------------|-----|------|
| มันฝรั่ง       | 200 | กรัม |
| น้ำตาลเด็คโตรส | 20  | กรัม |
| น้ำกลั่น       | 1   | ลิตร |

ต้มมันฝรั่งซึ่งล้างสะอาดและหั่นเป็นลูกเต๋ารายขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ในน้ำกลั่น ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จนสุก แล้วกรองแยกน้ำมันฝรั่งออกมาด้วยผ้าขาวบาง เติมน้ำตาลเด็คโตรส ลงไป อุ้นต่อ คนจนวุ้นละลายหมด จึงเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

### อาหารสูตรเพื่อการผลิตเอนไซม์ (Production Medium)

#### มีองค์ประกอบดังนี้

|   |      |           |
|---|------|-----------|
| Glucose                                   | 25   | กรัม      |
| Asparagine                                | 1    | กรัม      |
| $\text{KH}_2\text{PO}_4$                  | 1    | กรัม      |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0.5  | กรัม      |
| Fumaric acid                              | 1.32 | กรัม      |
| $\text{Na}_2\text{CO}_3$                  | 1.12 | กรัม      |
| $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$              | 0.2  | มิลลิกรัม |
| $\text{ZnSO}_4$                           | 0.2  | มิลลิกรัม |
| $\text{MnSO}_4$                           | 0.2  | มิลลิกรัม |
| น้ำกลั่น                                  | 1    | ลิตร      |
| guaiacol                                  | 0.4  | mM        |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด คนให้ละลาย แล้วเติมน้ำให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 15 นาที

## ภาคผนวก ข

### การเตรียมสารละลายเพื่อวัดโปรตีน (Lowry และคณะ, 1951)

#### 1. Lowry reagent I

ผสม 4 % Sodium carbonate 49 มิลลิลิตร ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์ 49 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติม 1 มิลลิลิตรของ 1% กริมต่อปริมาตร ของ  $\text{CuSO}_4$  และ 1 มิลลิลิตรของ 1 % โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทต

#### 2. Lowry reagent II

เจือจางสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent ให้มีปริมาณ 2 เท่า

### ขั้นตอนการเตรียมถุงไดอะไลซิส

1. นำถุงไดอะไลซิสของบริษัท Spectrum Medical Industries, Inc.
2. รูน Spectra 1 Por molecularporous membrane tubing ต้มในสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ 0.3 % ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที
3. นำถุงไดอะไลซิสไปล้างด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที
4. นำถุงไดอะไลซิสไปแช่ในกรดซัลฟูริก ที่มีความเข้มข้น 0.2 % จากนั้นล้างออกด้วยน้ำร้อนนาน 5 นาที
5. นำถุงไดอะไลซิสที่ผ่านขั้นตอนการเตรียมไว้เรียบร้อยแล้ว ไปบรรจุเอนไซม์ที่ต้องการทำไดอะไลซิส เพื่อแยกสารละลายเกลือออกจากเอนไซม์

### การเตรียมสไลด์เพื่อศึกษาโครงสร้างของเชื้อรา

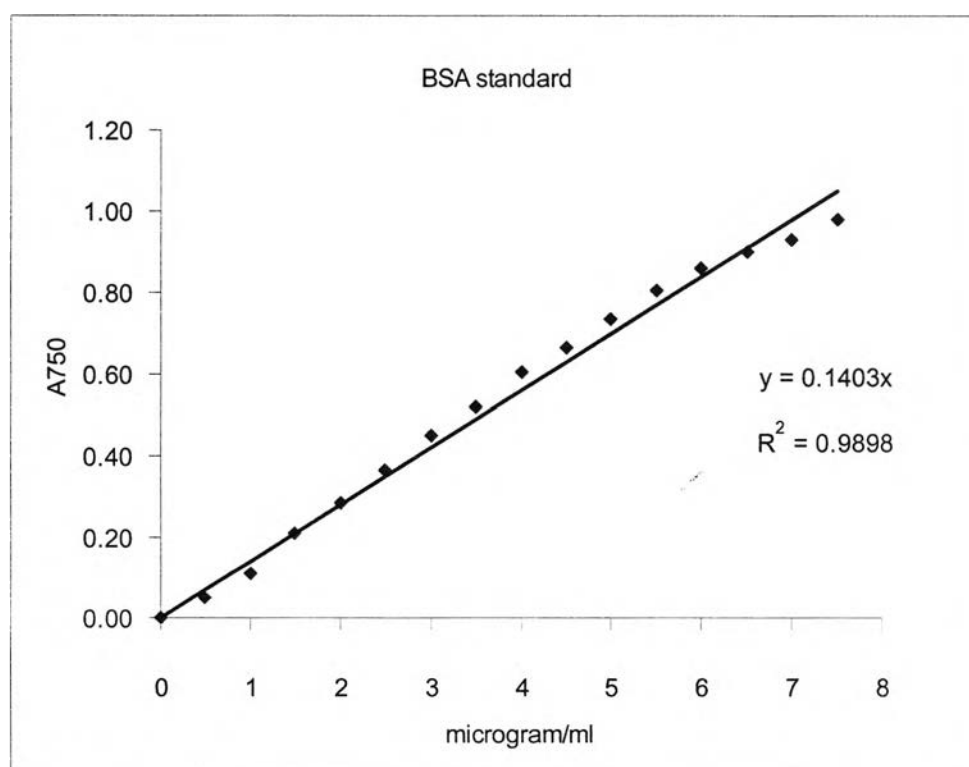
1. นำสไลด์ กระดาษปิดสไลด์ และแท่นวางสไลด์ ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ ปิดฝาและนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที
2. เตรียมอาหาร PDA เทใส่จานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้วอีกชุดหนึ่ง ตั้งทิ้งไว้จนอาหารแข็ง
3. จากนั้นใช้มีดผ่าตัด ตัดชิ้นวุ้นเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดประมาณ 0.5 x 0.5 เซนติเมตร
4. นำชิ้นอาหารที่ตัดได้มาวางไว้บนสไลด์ในจานเพาะเชื้อที่เตรียมจากข้อ 1

5. ใช้เข็มฉีดยาแทงอาหารที่ตัดได้ ตั้งทิ้งไว้เย็น จากนั้นนำไปแช่สปอร์ของเชื้อราที่ต้องการศึกษามาและที่มุมทั้งสี่ด้านของชิ้นอาหาร
6. ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ โดยต้องระวังไม่ ให้กระจกปิดสไลด์เอียงมาแตะกับสไลด์ที่อยู่ด้านล่าง
7. เทน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วลงไปเล็กน้อย แต่ไม่ให้ท่วมสไลด์ เพื่อให้เกิดความชื้น
8. นำไปบ่มเลี้ยงเพื่อให้เชื้อราเจริญเติบโต สังเกตเชื้อราจะค่อย ๆ เจริญเติบโต แผ่เส้นใยไปบนสไลด์และกระจกปิดสไลด์
9. นำสไลด์ที่มีเส้นใยของเชื้อราที่เจริญเติบโตอยู่มาเขี่ยชิ้นอาหารออก แต่ต้องระวังไม่ให้เส้นใยของเชื้อราติดมากับสไลด์ ดังนั้นจะได้ส่วนที่มีเส้นใยเชื้อราติดอยู่ 2 ส่วนคือ ที่สไลด์และกระจกปิดสไลด์
10. หยดแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ลงบนสไลด์ หรือ กระจก ปิดสไลด์ที่มีเส้นใยเชื้อ ราอยู่ เพื่อให้เส้นใยของเชื้อราแผ่กระจาย ทิ้งไว้สักครู่เพื่อให้แอลกอฮอล์ระเหย
11. หยดสี Lactophenol-cotton blue หรือ Lactophenol-anelene blue ลงไปเพื่อย้อมเส้นใยเชื้อรา
12. นำกระจกปิดสไลด์ ที่สะอาดแผ่นใหม่ ปิดทับลงไป ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ โดยใช้กระดาษซับสีส่วนเกินออกให้หมด และปิดทับขอบกระจกปิดสไลด์ทั้ง 4 ด้านด้วยน้ำยาทาเล็บ
13. นำสไลด์ตัวอย่างเชื้อราที่ได้ไปดูรายละเอียดด้วยกล้องจุลทรรศน์

## ภาคผนวก ก

### การทำกราฟมาตรฐานโปรตีน Bovine Serum Albumin (BSA)

1. เตรียมสารละลาย Bovine Serum Albumin (BSA) ให้มีความเข้มข้น 0 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0 4.5 5.0 5.5 6.0 6.5 7.0 และ 7.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. ใส่สารละลาย BSA ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เตรียมได้ จากข้อ 1 ลงในหลอดทดลอง หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร ทำความเข้มข้น 3 ชั่วโมง
3. เติมสารละลาย Lowry reagent I (ภาคผนวก ข) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ในแต่ละหลอด จากนั้นเขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 10 นาที หลังจากนั้นเติม Lowry reagent II (ภาคผนวก ข) เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาที
4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่นแสง 750 นาโนเมตร โดยที่หลอดควบคุม ให้ใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายโปรตีน BSA
5. นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าดูดกลืนแสงและปริมาณโปรตีน



กราฟมาตรฐานโปรตีน Bovine Serum Albumin (BSA)

## ประวัติผู้เขียน *ทบทวน*

ข้าพเจ้า นายบัณฑิต บุญทา เกิดเมื่อวันที่ 20 มีนาคม พ.ศ. 2521 สำเร็จการศึกษาชั้นประถมศึกษา เมื่อปี พ.ศ. 2533 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้น เมื่อปี พ.ศ. 2536 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย เมื่อปี พ.ศ. 2539 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาเอก ชีววิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (ประสานมิตร) เมื่อปี พ.ศ. 2536 เข้ารับการศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2546 และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาโท เมื่อปี พ.ศ. 2549