รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

โกศล จริงสูงเนิน. 2528. การเตรียมน้ำยางสด. วารสารยางพารา. ปีที่ 6. ฉบับที่ 1. เมษายน : สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร.

ทวีศักดิ์ วุฒิเวียงธรรม. 2536. การทำให้บริสุทธิ์และตรวจสอบคุณสมบัติของเอนไซม์ปาเปนจากยางมะละกอพันธุ์แขกดำ (*carica papaya* Linn.). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2535. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พรฤดี มุ่งสมานกุล. 2535. การชะละลายเม็ดยางธรรมชาติด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาวิณี คณาสวัสดิ์. 2531. การตรึงเอนไซม์และเซลล์. ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วราภรณ์ ธจรไชยกุล. 2524. คุณสมบัติและส่วนประกอบของน้ำยางธรรมชาติ. วารสารยางพารา. ปีที่ 2. ฉบับที่ 1. เมษายน : สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร.

_____. 2532. การผลิตยางธรรมชาติ. พิมพ์ครั้งที่ 2. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 1. ศูนย์วิจัยยางสงขลา : สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร.

ภาษาอังกฤษ

Archer, B. L. 1960. The proteins of Hevea brasiliensis latex 4. Isolation and characterization of crystalline hevein. Biochem. J. 75 : 236.

_____. 1975. Biochemistry of enzyme deproteinization of Hevea brasiliensis latex. Proc. of International Rubber Conference : 532-542.

_____. 1976. Hevamine : a crystalline basic protein from Hevea brasilienis latex. Phytochemistry. 15 : 297.

Arnon, R. 1970. Method in enzymology. vol.19 (pearlman, G.F. and Lorand, L., eds). New york : Academic Press.

Beynon, R.J., and Bond, J.S. 1989. Proteolytic enzyme . pp.260. Oxford England : IRL Press.

Brocklehurst, K., Baines, B.S., and Kierstan, M.P.J. 1981. Topic in enzyme and fermentation biotechnology. vol.5

Brotherton, J.E., Emery, A., and Rodwell, V.W. 1976. Characterization of sand as a support for immobilized enzymes. Biotechnol. Bioeng. vol. 18 : 527-543.

Broun, G., Thomas, D., Gellf, G., Domurado, D., Berjonneau, A.M., and Guillon, C. 1973. New method for binding enzyme molecules into a water-insoluble matrix : properties after insolubilizaton. Biotech. Bioeng . vol. 15 : 359-375.

Chang, W.P., Lau, C.M., and Nambiar, J. 1977. Deproteinized

natural rubber from field latex.

Proc of the Plr's Conf : 295-301.

Chibata, I. 1978. Immobilized enzyme, research and development. Tokyo : A Halsted Press Book.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1981. FAO food and nutrition paper.

The 25th Session of the Joint. FAO/WHO Expert Committee on Food Additive, March, 23-April, 1 Geneva.

Finley, J.W., Stanley, W.L., and Watters, G.G. 1977. Removal of chill haze from beer with papain immobilized on chitin. Biothnol. Bioeng. Vol. 19 : 1895-1897.

Ghayal, C.D., and Joshi, R.N. 1983. A kinetic study of papain immobilized in paraffin wax. Biotechnol. Bioeng. vol. 25 : 2099-2101.

Gomez, J.B. 1974. Ultrastructure of mature latex vessels in Hevea brasiliensis. Proc. 8 th Int. congr. Electron microsc. Canberra 2 : 616.

Huffman, D.L., Palmer, A.Z.,C arpenter,J.W., Hentges, J.F.Jr., and Shirley, R.L. 1967. Effect of antemortem injection of sodium chloride, papain and papain derivatives on the tenderness of beef. J. Anim. Sci. 26(2) : 285-289.

Jansen, E.F., and Olson, A.C. 1969. Properties and enzymatic activities of papain insolubilized with glutaraldehyde. Arch. Biochem. Biophys. 129 : 221-227.

Jasim, M.A., HALL, G.M., Mann, J., and Taylor, K.D. 1987.

A comparison of immobilized protease activities. J. Chem. Tech. Biotechnol. 40 : 251-258.

Jin, F., Toda, K. 1988. Preparation of immobilized papain covalently bound on natural cellulose for treatment of beer. Biotechnology Letters. Vol.10. No.3 : 221-223

John, C.K. 1976. Studies on some anticoagulants and preservatives of Hevea latex. J. Rubb. Res. Inst. Malaysia. 24(3) : 137-144.

————., Nadarajah, M., Chan, B.L. 1977. Enzyme treatment of Hevea latex to obtain superior quality rubber. J. Rubb. Res. Inst. Sri Lanka. 54 : 610-629.

Kaul, R., and Mattiasson, B. 1992. Workshop on immobilization techniques for enzymes and cells. p. 35. Thailand : Faculty of Science, Chiang Mai University.

Kilara, A. and Shahani, K.M. 1977. Preparation and propertier of immobilized papain and lipase. Biotechnol. Bioeng. Vol. 19 : 1703-1714.

Kimmel, J.R., and Smith, E.L. 1954. Crystallin papain. J. Biol. Chem. 207 : 515-576

Klein, I.D., and Kirsch, J.F. 1969. The activation of papain and the inhibition of the active enzyme by carbonyl reagents. J. Biol. Chem. 244 : 5928.

Koosakul, P. 1994. Large scale production of deproteinized rubber. Master's Thesis. Chulalongkorn University.

Line, W.F., Kwong, A., and Weetall,H.H. 1971. Pepsin

insolubilized by covalent attachment to glass preparation and characterization. Biochim. Biophys. Acta. 242 : 194-202.

Lowe, G. 1975. The cysteine proteinases. Tetrahedron. 32 : 29-32.

Lynn. 1979. A purification and some properties of two protease from papaya latex. Biochimica. et Biophysica. Acta. 569 : 193-201.

Messing, R.A. 1975. Immobilized enzymes for industrial reactors. America : Academic Press, Inc.

Nadarajah, M., Yapa, P.A., Balasingham.C.G., and Kasinathan,S. 1973. The use of papain as a biological coagulant for natural rubber latex.
J, Rubb. Res. Inst. Sri Lanka (Ceylon). 50 : 134-142.

Ozawa, K., Ohnishi, T., and Tanaka, S. 1962. Activation and inhibition of papain. J. Biochem. 51 : 372-373.

Puvanakrishnan, R., and Bose, S.M. 1980. Studies on the immobilization of trypsin on sand. Biotechnol. Bioeng. Vol. 23 : 919-928.

Rubber Research Institute of Malaya. 1970. R.R.I.M. Test methods for standard Malaysian rubbers.
SMR Bulletin. No.7 : 1-37.

Robinson, P.J., Dunnill, P., and Lilly, M.D. 1971. Porous glass as a solid support for immobilization or affinity chromatography of enzyme. Biochim. Biophys. Acta.

242 : 659-661.

Sivabalasunderam, J., and Nadarajah, M. 1965. Factor affecting the plasticity retention index. Proc. Int. Rubb. Conf. Sri Lanka. : 13-28.

Sluyterman, L.A.E. 1967a. The activation reaction of papain. Biochim. Biophys. Acta. 139 : 430-438.

_____. 1967b. Reversible inactivation of papain by cyanate. Biochim. Biophys. Acta. 139 : 439.

Smith, E.L., and Kimmel, J.R. 1960. Papain, in The Enzyme Vol. 4 (Boyer, P.D., Lardy, H., and Myrback, K., eds.) pp.133 New York : Academic Press.

Subramaniam, A. 1975. Moleucular weight and other properties of natural rubber : a study of clonal variation. Proc. Int. Rubb. Conf. 4 : 110.

Tarhan, L., and Pekin,B. 1983. Immobilization of papain with acrolein-styrene copolymers containing carbonyl groups. Biotechnol. Bioeng. Vol.25 : 2777-2783.

Thomplinson, D.K. Angelo, I.A., and Mathur, M.P. 1983. Immobilization of rennet on sand a preliminary report. J. of Dairy Science. 36(3) : 328-329.

Thornton, D., Francis, A., and Johnson.,D. B. 1974. Biochemical Society Transactions. vol. 2 : 137-138.

Treven, M.D. 1988. Techniques of immobilization. Immobilized Enzymes, p.7. New York : Wiley and sons.

Venkatasubramanian, K., Saini, R., and Vieth, W.R. 1975.

Immobilization of papain on collagen and the use of collagen-papain membranes in beer chill-proofing. J. of food science. vol.40 : 109-113.

Visessanguan, W. 1992. Optimization of natural rubber latex deproteinization by enzymes. Master's Thesis. Chulalongkorn University.

Ward, O.P. 1985. Comprehensive Biotechnology. Vol.3. (Moo Yang. M., ed) Oxford. New York, Toronto. Sydney. Frankfurt : Pergamon Press.

Weetall, H.H. 1969. Trypsin and papain covalently coupled to porous glass : preparation and characterization. Science. Vol.166 : 615-617.

_____. 1970. Storage stability of water-insoluble enzyme covalenty coupled to organic and inorganic carriers. Biochim. Biophys. Acta. 212 : 1-7.

_____. , and Mason, R.D. 1973. Studies on immobilized papain. Biotechnol. Bioeng. Vol.15 : 455-566.

Yapa, P.A.J., and Balasing, C.G. 1974. The proteolytic action of papain on proteins in Hevea latex. J. Rubb. Res. Inst. Sri Lanka. 51 : 1-12.

_____. 1975. The preparation and properties of low nitrogen constant viscosity rubber. J. Rubb. Res. Inst. Sri Lanka. 52 : 1-9.

_____., Nadarajah, M., and Loganathan, K.S. 1980. Use of papain treatment of NR latex to produce superior-quality

rubbers. Plastics and Rubber : materials and applications february : 32-35.

_____. and Lionel, W.A. 1980. Some studies on cyclization of bromelain treated rubber. J. Rubb. Res. Inst. Sri Lanka. 57 : 7-12.

_____. and Yapa, s. 1984. Recent developments in the manufacture of DPNR. Proc. Int. Rubb. Conf. 2 : 145-160.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารละลายสำหรับวัดแอคติวิตีของเอนไซม์โดยใช้เคซีนเป็นซับสเทรต

สารละลายเคซีน 1 เปอร์เซ็นต์

ชั่งเคซีน (casein hammarsten) 1 กรัม ละลายใน 100 มิลลิลิตร ของสารละลาย 0.05 โมลาร์ โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7 นำไปให้ความร้อนและคนจนเคซีนละลาย ทิ้งไว้ให้เย็น

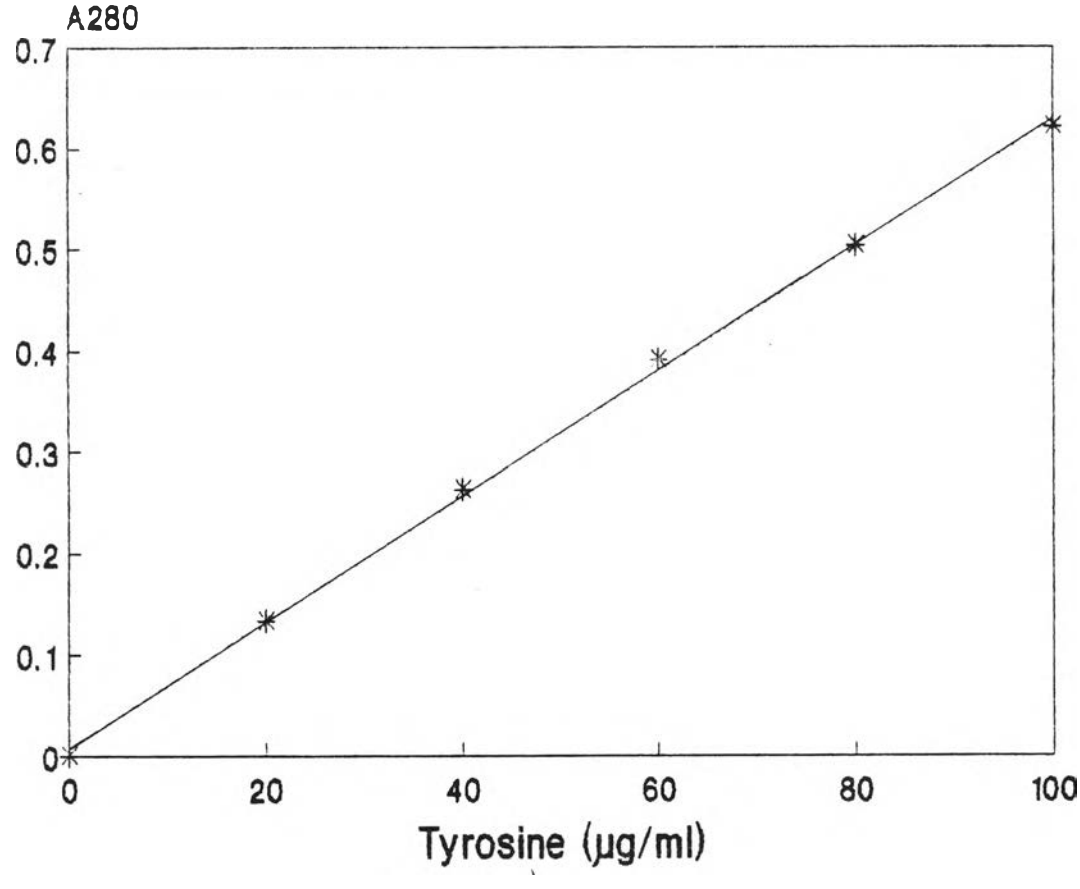
สารละลายกรดไตรคลอโรแอซีติก

ชั่งกรดไตรคลอโรแอซีติก 30 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

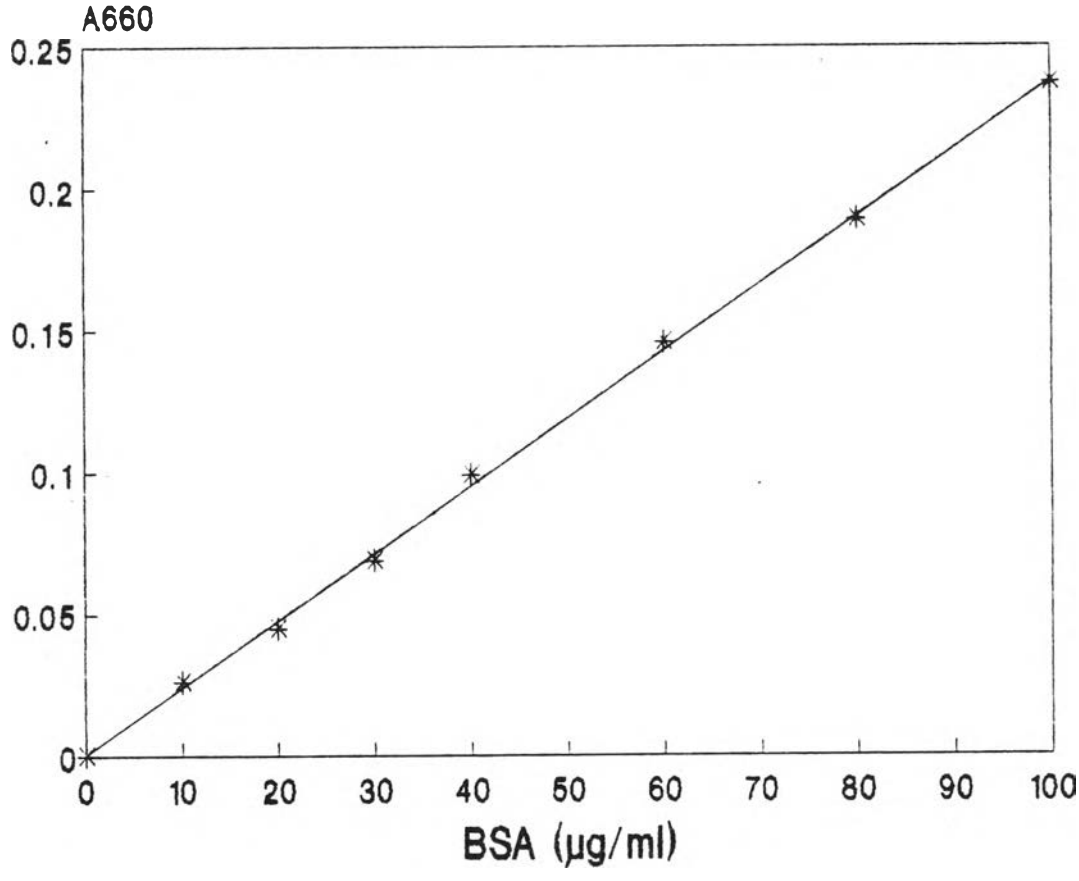
ภาคผนวก ข

กราฟมาตรฐาน

กราฟมาตรฐานของไทโรซีนสำหรับการวัดโปรติเอสแอคติวิตี เมื่อใช้เคซีนเป็นซับสเทรต



กราฟมาตรฐานของสารละลาย BSA สำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธีของ Loery



ภาคผนวก ค

การคำนวณแอคติวิตีของเอนไซม์โดยใช้เคซีนเป็นสับสเตรท

$$CDU = \frac{(E - E_o) \times V}{E_s \times t \times a}$$

E = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ช่วงความยาวคลื่น 280 นาโนเมตรเมื่อเอนไซม์ทำปฏิกิริยากับเคซีนเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

E_o = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ช่วงความยาวคลื่น 280 นาโนเมตรของหลอดควบคุม

V = ปริมาตรทั้งหมดของสารละลาย (ml)

E_s = ค่าคงที่ที่วัดได้จากความชัน (slope) ของกราฟมาตรฐานไทโรซีน

t = เวลา (นาที)

a = ปริมาตรของเอนไซม์ (ml) หรือน้ำหนักของทรายที่ใช้ (g)

ภาคผนวก ง

การเตรียมสารละลายสำหรับหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry (Lowry,1959)

สารละลายอัลคาไลน์คอปเปอร์ ประกอบด้วยสารละลาย A สารละลาย B และสารละลาย C

สารละลาย A

ชั่ง โซเดียมคาร์บอเนต 20 กรัม โซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม และโปแตสเซียมทาร์เทรต 0.2 กรัม ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

สารละลาย B

ชั่งคอปเปอร์ (II) ซัลเฟต 2.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร

สารละลาย C

ผสมสารละลาย A 50 มิลลิลิตร กับสารละลาย B 1 มิลลิลิตร ก่อนนำไปใช้

สารละลายฟีนอลรีเอเจนต์ (phenol reagent)

ผสมโซเดียมทังสเตท 50 กรัม โซเดียมโมลิเดท 12.5 กรัม น้ำกลั่น 550 มิลลิลิตร กรดฟอสฟอริก 85 เปอร์เซ็นต์ 25 มิลลิลิตร และกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

50 มิลลิลิตร กลั่น (reflux) ด้วยความร้อนต่ำ 10 ชั่วโมง และเติมลิเธียมซัลเฟต 75 กรัม น้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร และโบรมีน 2-3 หยด ต้มไล่โบรมีนที่มีมากเกินพอเป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น และเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 500 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาในตู้เย็นก่อนที่จะนำมาใช้ควรเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1

ภาคผนวก จ

การเตรียมสารละลายสำหรับหาโปรตีนโดยวิธี Micro-Kjeldahl

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 เปอร์เซ็นต์

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

สารละลายกรดบอริก 4 เปอร์เซ็นต์

ชั่งกรดบอริก 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร โดยให้ความร้อนช่วยในการละลาย

สารละลายอินดิเคเตอร์

ชั่งเมธิลเรด 0.4 กรัม และบรอมกลีซอลกรีน 0.4 กรัม นำไปละลายในเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

สารเร่งปฏิกิริยา

ชั่งโปแตสเซียมซัลเฟต 30 กรัม คอปเปอร์ซัลเฟต 4 กรัม และผงซีเลเนียม 1 กรัม ผสมให้เข้ากัน

ภาคผนวก ฉ

การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง

สารละลายแอซีเทรตบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ pH 5.5 และ 6

ละลายโซเดียมแอซีเทรต (M=136.09) 0.68 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับ pH ให้เป็น 5.5 และ 6 ด้วยสารละลาย 0.05 โมลาร์ กรดแอซีติก จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ pH 6-7.5

ชั่งไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (M=178.05) 8.9 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร และโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 7.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เป็น stock solution ผสมสารละลายทั้งสองชนิดในอัตราส่วนดังต่อไปนี้

pH	Na_2HPO_4 (ml)	NaH_2PO_4 (ml)
6.0	13	87
6.5	32	68
7.0	60	40
7.5	83	17

สารละลายทริส-ไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ pH 7.5-9.5

ละลายทริส (ไฮดรอกซีเมทธิล)-อะมิโนมีเธน (Tris (hydroxymethyl)-aminomethane) (M=121.14) 0.61 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับ pH ให้เป็น 7.5, 8, 8.5, 9 และ 9.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.05 โมลาร์ เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

สารละลายคาร์บอเนต-ไบคาร์บอเนตบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ pH 9.5 และ 10

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต (M=105.99) 5.3 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร และโซเดียมไบคาร์บอเนต 4.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เก็บเป็น stock solution ผสมสารละลายทั้งสองชนิดในอัตราส่วนดังต่อไปนี้

pH	Na_2CO_3 (ml)	$NaHCO_3$ (ml)
9.5	13	87
10.0	28	72

ประวัติผู้เขียน

นางสาว สันศณี จงจิตสาราญ เกิดวันที่ 24 พฤษภาคม พ.ศ. 2510 จบการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ จากคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อปี พ.ศ. 2533 และเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญามหาบัณฑิตหลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย