

เอกสารอ้างอิง

1. บุญส่ง แสงอ่อน, บทบาทของบัคทีเรียในน้ำอ้อย , วิทยานิพนธ์มหาวิทยาลัยมหานิติ, ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ,2525.
2. การค้นคว้าและทดลอง, กอง. คู่มือนักวิชาการ. พระนคร: กรมกลีกรรรม, 2510.
3. คณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล, สำนักงาน. สรุปสถานการณ์การผลิตน้ำตาลของประเทศไทยในฤดูกาลผลิตปี 2531-2534. กรุงเทพมหานคร : สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล ฝ่ายนโยบายเศรษฐกิจและน้ำตาล, 2534.
4. ธนาคารกลีกรไทยจำกัด, สรุปข่าวเศรษฐกิจธนาคารกลีกรไทยจำกัด, 19-31 พฤษภาคม, 7-17, 2530.
5. คณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล, สำนักงาน. กรรมวิธีการผลิตน้ำตาล. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล ฝ่ายพัฒนาเทคโนโลยีน้ำตาล , 2532.
6. สันติ ฉายตระกูล, เทคนิคการคัดเลือกพันธุ์สำคัญของกระบวนการผลิตและคุณภาพน้ำตาลทราย. น้ำตาล, พค.-มิย., 137-143, 2525.
7. ยงยุทธ อัจจง, การสูญเสียที่ไม่รู้สาเหตุ. น้ำตาล, กย.-ตค., 1-15, 2521.
8. เอก แสงวิเชียร, เทคนิคการเนลจาก *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 , วิทยานิพนธ์มหาวิทยาลัยมหานิติ, ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2531.
9. กาญจนา ปุณฺณโสม, การตรึงรูปยีสต์ทำเบียร์ที่มีอินเวอร์เทสบนทราย , วิทยานิพนธ์มหาวิทยาลัย, ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2533.
10. จรัญ จันทลักษณ์, สถิติ วิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช, 2527.
11. Barnes, A.C., The Sugar Cane, pp.421-469, Billing and Sons Ltd., Guildford and London., 1974.

12. Beven, D. and J. Bond , " Microorganisms in Fields and Mill: a Preliminary Survey ", Qc. Soc. Sug. Technol. , 38 , 137-143, 1971.
13. Irvine, J.E., " Fields Origins of Dextran and other Substance Affecting Sucrose Crystallization ", Sug. Y. Azucar. 76 (7), 43-47, 1981.
14. Chen, C.P.J. and M. George, Cane Sugar Handbook , pp.409, John Wiley Interscience , 10th edition, New York, 1977.
15. Sawai, T., K. Toriyama and K. Yano , " A Bacterial Dextranase Releasing only Isomaltose from Dextran ", J. biochem. , 75, 105-112, 1974.
16. Tchuchiya, H.M., A. Jeanes, H.M. Briker and C.A. Wilham, " Dextran Degrading Enzymes from Molds ", J. Bacteriol. , 52, 513-519, 1952.
17. Hattori, A. and K. Ishibashi, " Screening of Dextranase of Producing Microorganisms ", Agric. Biol. Chem., 45, 2347-2349, 1981.
18. Zevenhuizen, L.P.T.M., " Cell-bound Exodextranase of *Bacillus* sp. ", Carbohydr. Res. , 6, 310-318, 1968.
19. Baily, R.W. and R.T. Clark, " A Bacterial Dextranase ", Biochem J., 72, 49-54, 1959.
20. Staat, R.H. and C.F. Schachtele , " Dextranase from Oral Bacteria ", Infect. and Immun. , 12, 309-317, 1974.
21. Webb, E. and I. Spencer-Martins, " Extracellular Endodextranase from the Yeast *Lipomyces starkeyi* ", Can. J. Microbiol., 29, 1092-1095, 1983.
22. Fukumoto, J., N. Hiraoka, T. Hirose and D. Tsuru, " Studies (2) Dextranase Production by a Strain of *A. carneus*.", Agric. Biol. Chem., 35, 1727-1732, 1971.

23. Foxgarty, W.M. and C.J. Kelly, " Topics in Enzyme and Fermentation Technology 3 " (Wiseman, A.ed.), pp.57-69, John Wiley and Sons, New York, 1984.
24. Godfrey, T. and J.Reichelt, Industrial Enzymology, pp.432-478, Macillan Pub. The Nature Press ,U.K.,1983.
25. Hirsoka, N., J.Fukumoto and D.Tsuru , " Studies (3) Purification and some Enzymatic Properties of *A.carneus* ", J.Biochem. 71,57-64,1972.
26. Hattori, A., K.Ishibashi and S.Minati, " The Purification and Characterization of the Dextranase of *Chaetomium gracile*", Agric. Biol. Chem. , 45 , 2409-2416 ,1981.
27. Sugiura, M. and A.Ito., "Studies on Dextranase IV. Immobilization of Dextranase from *Penicillium funiculosum* IAM 7013 " , Chem. Pharm. Bull. , 22 , 2941-2946, 1974.
28. Kosaric, N., K.Yu and J.E. Zajic, " Dextranase Production from *P.funiculosum* ", Biotechnol. Bioeng. ,15,729-741,1973.
29. Chaiet, L., A.J.Kempf, R.Harman, E.Kaczka, R.Weston, K.Nollstadt and F.J.Wolf, " Isolation of A Dextranase from *P.funiculosum* ", Appl. Microbiol. , 20, 421-426, 1970.
30. Tsuru, D., H.Tsuji and J.Fukumoto , " Studies (1) *P. laticum* dextranase : Its Production and Enzymatic Properties", J. Biochem. , 69,1113-1121,1971.
31. Wheatley, M.A. and M.Moo-Young, " Degradation of Polysaccharide by Endo- and Exoenzyme:Dextran-Dextranase Model System", Biotechnol. Bioeng. , 19, 219-233, 1977.
32. Madhu and K.A.Prabhu, "Studies on Dextranase from *P.aculeatum*", Enz. Micro. Tech., 6, 217-220, 1984.

33. Koenig, D.W. and D.F. Day , " Production of Dextranase by *Lipomyces starkeyi* ", Biotech Lett. , 10(2), 117-122 , 1988.
34. Staat, R.H., T.H.Gawronski and C.F. Schachtele , " Detection and Preliminary Studies on Dextranase Producing Microorganism from Human Dental Plaque " Infect. and Immun. ,8, 1009-1016, 1973.
35. Yamaguchi, T. and J.Gocho , " Production and Properties of Alkaline Dextranase from a Newly Isolation *Brevibacterium* sp." , Agric. Biol. Chem. ,37, 2527-2533,1973.
36. Kobayashi,M., S. Takagi, M.Shiota, Y.Mitsushi and K.Matsuda, " An Isomaltotriose-producing Dextranase from *Flavobacterium* sp. M-73 Purification and Properties " , Agric. Biol. Chem. , 47, 2585-2593 ,1983.
37. NOVO, Product from Data Information 112e-GB, NOVO Enzyme Division Denmark, 1983.
38. Tilbury, R.H. " Dextran and Dextranase " , Proc.14thISSCT , 1444-1458, 1971.
39. Imrie, F.K.E. and R.H. Tilbury, " Polysaccharides in Sugar Cane and Its Products " , Sugar Tech. Rev. , 1, 291-361, 1972.
40. Tilbury, R.H. and S.M. French, " Further Studies on Enzymatic Hydrolysis of Dextran in Mills Juices by Dextranase and Fungal α -Amylase " , Proc. 15thISSCT , 1277-1286, 1974.
41. Inkerman, P.A.," An Appraisal of the Use of Dextranase " , Proc. 17thISSCT , 2411-2427, 1980.
42. Jolly, S.C. and C. Prakash," Removal of Dextran from Cane Juice " , Int. Sugar J. , 89, 184-186, 1987.

43. Wang, D.I.C., C.L. Coony, A.L. Demain, P. Dunnill, A.E. Humphrey and M.D. Lilly, Enzyme Kinetics and Immobilization in Ferment. Technol., Heden, C.G. ed. pp. 318-336. John Wiley and Sons, USA., 1979.
44. Mosbach, K., Insolubilized Enzyme, Salmona, M., Saronio, C. and Garattini, S. eds, pp. 1-27 Reven Press, New York, 1974.
45. Kennedy, J.F. and J.M.S. Cabral, Enzyme Immobilization, Rehm, H.J., Reed, G., ed. pp. 370-371. Federal Republic of German, 1987.
46. Daniels, M.J., "Industrial Operation of Immobilized Enzymes", Method in Enzymology, 136, 371, 1987.
47. Ramesh, V. and C. Singh, "Bacterial Dextranase Immobilised on Zirconia Coated Alkylamine Glass Using Glutaraldehyde", Biochem. Biophys. Res. Commun., 97, 779-786, 1980.
48. Madhu and K.A. Prabhu, "Immobilization of Dextranase on Bentonite", Enzyme. Micro. Technol., 7, 279-282, 1985.
49. Stoner, G.E., F. Gileadi, J.C. Ludlow and D.J. Kirwan, "Immobilization of Trypsin on Carbon", Biotechnol Bioeng., 17, 455-456, 1975.
50. Lui, C.C., E.J. Lahoda, R.T. Galasco and L.B. Wingard, Jr., "Immobilization of Lactose on Carbon", Biotechnol. Bioeng., 17, 1695-1696, 1975.
51. Cho, Y.K. and J.E. Bailey, "Enzyme Immobilization on Activated carbon: Alleviation of Enzyme Deactivation by Hydrogen Peroxide", Biotechnol. Bioeng., 19, 769-775, 1977.
52. Cho, Y.K. and J.E. Bailey, "Immobilization of Enzyme on Activated Carbon: Properties of Immobilized Glucoamylase, Glucose oxidase and Gluconolactonase", Biotechnol. Bioeng., 20, 1651-1665, 1978.

53. Lantero, Jr., "Immobilization of Biocatalyst on Granular Carbon",
U.S. Patent, 4,438,196 , 1984.
54. Thornton, D., A. Francis, D.B. Johnson and P.D. Ryan, " The
Immobilization of Lactoperoxidase and α -Fructofuranosidase
on Glass and Sand by the Metal-link Method ",
Biochem. Soc. Trans., 2, 137-139, 1974.
55. Byrne, M.J. and D.B. Johnson, " Studies on the Immobilization
of β -Galactosidase " Biochem. Soc. Trans., 2, 496- 497,
1974.
56. Thornton, D., M.J. Byrne, A. Flynn and D.B. Johnson, " The
Immobilization of Enzyme on Inorganic Supports ",
Biochem. Soc. Trans., 2, 1360-1362, 1974.
57. Puvanakrishnan, R. and S.M. Bose, " Studies on the Immobilization
of Trypsin on Sand ", Biotechnol. Bioeng. , 22, 919-928,
1980.
58. Anprung, P., S. Chuengsaengsatityaporn and C. Thunpithayakul,
"Immobilized Rennin for Cheese Making I: Preparation
and Enzymatic Properties of Rennin Immobilized on
sand", Asean Food Journal, 4, 107-110, 1989.
59. Weetal, H.H., "Trypsin and Papain Covalently Coupled to Porous
Glass: Preparation and Characterization", Science , 166,
615-617, 1969.
60. Weetal, H.H., " Alkaline Phosphatase Insolubilized by Covalent
Linkage to Porous Glass ", Nature , 223, 959-960, 1969.
61. Weetal, H.H., and L.S. Hersh., " Urease Covalently Coupled to
Porous Glass", Biochim. Biophys. Acta. , 185, 464-465,
1969.

62. Weetal, H.H., " Storage Stability of Water-insoluble Enzymes Covalently Coupled to Organic and Inorganic Carriers", Biochem. Biophys. Acta., 212, 1-7, 1970.
63. Douglas, A.L., F.E. Stoezenbach, N.O. Kaplan and M.D. Kamen, " Immobilization of Hydrogenase on Glass Beads ", Biochem. Biophys. Res. Commun., 69, 878-884, 1976.
64. Park, N.H. and H.N. Chang, " Preparation and Characterization of Immobilized Naringinase on Porous Glass Beads. ", J. Ferment. technol., 57, 310-316, 1979.
65. Somogyi, M., "Notes on Sugar Determination", J. Biol. Chem., 195, 19-23, 1952.
66. Nelson, N., "A Photometric Adaptation of the Somogyi Method for Determination of Glucose", J. Biol. Chem., 153, 375-380, 1944.
67. Lowry, O.H., N.J. Rosenbrough, A.L. Farr and R.J. Randall, "Protein Measurement with the Folin phenol reagent", J. Biol. Chem., 193, 265-275, 1951.
68. Leonowicz, A., M. Sarkar and J.M. Bollag, "Improvement in Stability of an Immobilized Fungal Laccase", Appl. Microbial. Biotech., 29, 129-135, 1988.
69. Hasseler, J.W., " Biochemical Properties", Activated Carbon, pp.274-292, Chemical Publishing Co., Inc. New York, 1974.
70. Fadda, M.B., M.R. Dessi and A. Rinaldi, "Sandy Alumina as Substrate for Economic and Highly Immobilization of β -Glucosidase", Biotechnol. Bioeng., 33, 777-779, 1989.
71. Trevan, M.D., Immobilized Enzyme an Introduction and Application in Biotechnology, pp.11-15, John Wiley and Sons, 1980.

72. Shimizu, K. and M. Ishihara, " Immobilization of Cellulolytic and Hemicellulolytic Enzyme on Inorganic Support", Biotechnol. Bioeng., 29, 236-341, 1987.
73. Deloggio, T.J. and D.J. Grave, "An Immobilized Hydrogenase from *Alcaligenes eutrophus* H-16", Biotechnol. Bioeng., 32, 295-300, 1988.
74. Chibata, I., "Research and Development", Immobilized Enzyme, pp. 1-147, Halsted Press, New York, 1978.
75. Park, N.H. and H.N. Chang, "Preparation and Characterization of Immobilized Naringinase on Porous Glass Beads", Ferment. Technol., 57, 310-316, 1979.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ก-1 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตเตกซ์แทรนเนสตามวิธีของ Fukumoto และคณะ(22)

| | | |
|--|-------|-------------|
| Dextran | 1.0 | เปอร์เซ็นต์ |
| NaNO_3 | 0.2 | " |
| K_2HPO_4 | 0.2 | " |
| KCl | 0.05 | " |
| $\text{Mg}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0.05 | " |
| Fe_2SO_4 | 0.001 | " |
| Yeast Extract | 0.2 | " |

ปรับความเป็นกรดต่างเป็น 6.0 หนึ่งฆ่าเชื้อที่สภาวะมาตรฐาน

ก-2 รีเอเจนท์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Somogii-Nelson) (65, 66)

2.1 อัลคาไลน์ คอปเปอร์ รีเอเจนท์ (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 มิลลิลิตร เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 นอร์มอล 100 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายของคอปเปอร์ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ 80 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วทำให้ร้อน จากนั้นเติมโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) 180 กรัม ละลายให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร เก็บในขวดสีน้ำตาล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24-48 ชั่วโมง ถ้ามีตะกอนให้กรองออกแล้วจึงนำไปใช้

2.2 เนลสัน รีเอเจนต์ (Nelson Reagent)

ละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต ($(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 53.2 กรัม
 ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 21 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเติม
 สารละลายของโซเดียมอาซิเนต (NaHASO_4) ความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ 50 มิลลิลิตร
 ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 1 ลิตร เก็บในขวดสีน้ำตาล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง
 ถ้ามีตะกอนกรองออกแล้วจึงนำไปใช้

ก-3 รีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Lowry) (67)

3.1 ลอว์รี่ เอ (Lowry A)

| | | |
|---|-------|-----------|
| โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) | 50 | กรัม |
| โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) | 12 | กรัม |
| โซเดียมโปตัสเซียมทาร์เตรต | 0.6 | กรัม |
| ละลายในน้ำกลั่น | 3,000 | มิลลิลิตร |

3.2 ลอว์รี่ บี (Lowry B)

| | | |
|---|-------|-----------|
| คอปเปอร์ ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) | 5 | กรัม |
| ละลายในน้ำกลั่น | 1,000 | มิลลิลิตร |

3.3 ลอว์รี่ ซี (Lowry C)

| | | |
|---------------|----|------|
| ผสมลอว์รี่ เอ | 50 | ส่วน |
| ผสมลอว์รี่ บี | 1 | ส่วน |

3.4 สารละลายฟีนอลรีเอเจนต์ (Phenol Reagent) (Lowry D)

| | | |
|------------------------|---|------|
| สารละลายฟีนอลรีเอเจนต์ | 1 | ส่วน |
| น้ำกลั่น | 1 | ส่วน |

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิธีวิเคราะห์หาเงื่อนไขของข้อมูลแบบสุ่มตลอด สำหรับการทดลองแบบแฟคทอเรียล 2 ปัจจัย

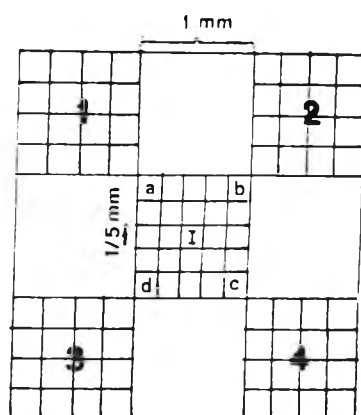
| SOV | df | SS | MS | F _{calculated} | F _{table} |
|-------|------------|---|-------------------------------------|------------------------------------|--|
| A | a-1 | $\sum_{i=1}^a x_{i..}^2 / br - \left(\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^r x_{ijk} \right)^2 / abr$ | SS _A / df _A | MS _A / MS _E | f(% sig., df _A , df _E) |
| B | b-1 | $\sum_{j=1}^b x_{.j.}^2 / ar - \left(\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^r x_{ijk} \right)^2 / abr$ | SS _B / df _B | MS _B / MS _E | f(% sig., df _B , df _E) |
| AB | (a-1)(b-1) | $\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b x_{ij.}^2 / r - \left(\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^r x_{ijk} \right)^2 / abr - SS_A - SS_B$ | SS _{AB} / df _{AB} | MS _{AB} / MS _E | f(% sig., df _{AB} , df _E) |
| Error | ab(r-1) | by subtraction | SS _E / df _E | | |
| Total | abr - 1 | | | | |

ภาคผนวก ค

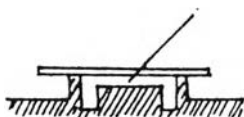
การนับสปอร์โดยใช้อีมาไซโตมิเตอร์

หาปริมาณจำนวนสปอร์โดยนับสปอร์ในช่องใหญ่ 5 ช่อง โดยในแต่ละช่องใหญ่
นั้นนับ 8 ช่อง ดังแสดงรูปข้างล่าง

จำนวนสปอร์ = $1/4$ จำนวนสปอร์เฉลี่ยในช่องเล็ก $\times 10^6$ สปอร์ต่อมล.



Depth of Chamber = 0.1 mm.



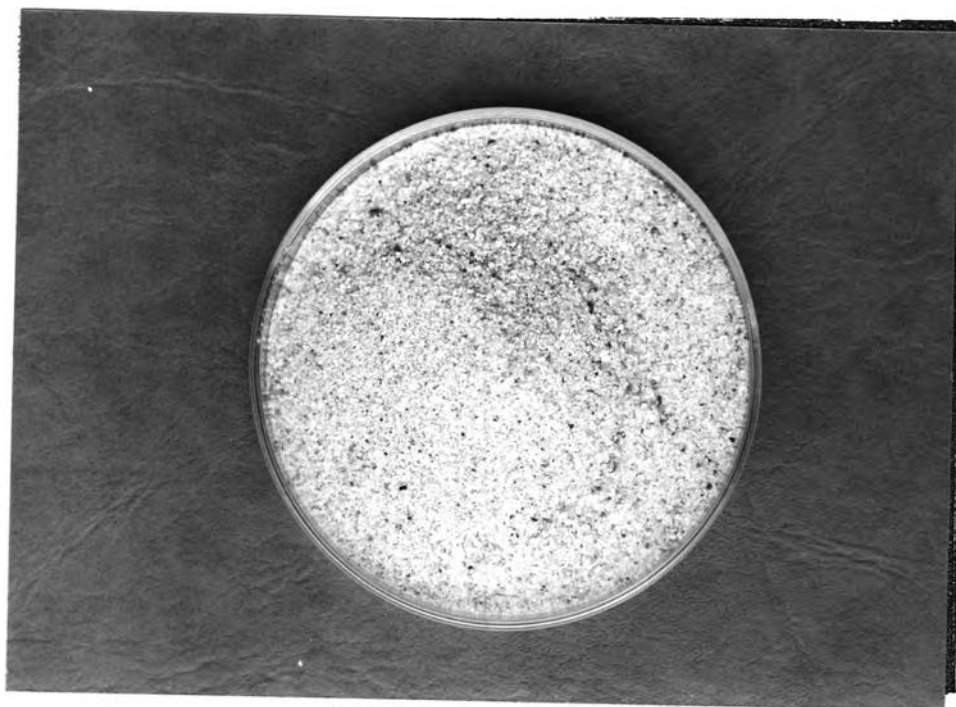
ภาคผนวก ง

ง-1 ลักษณะของตัวอย่างที่ใช้ในการตรึงรูป

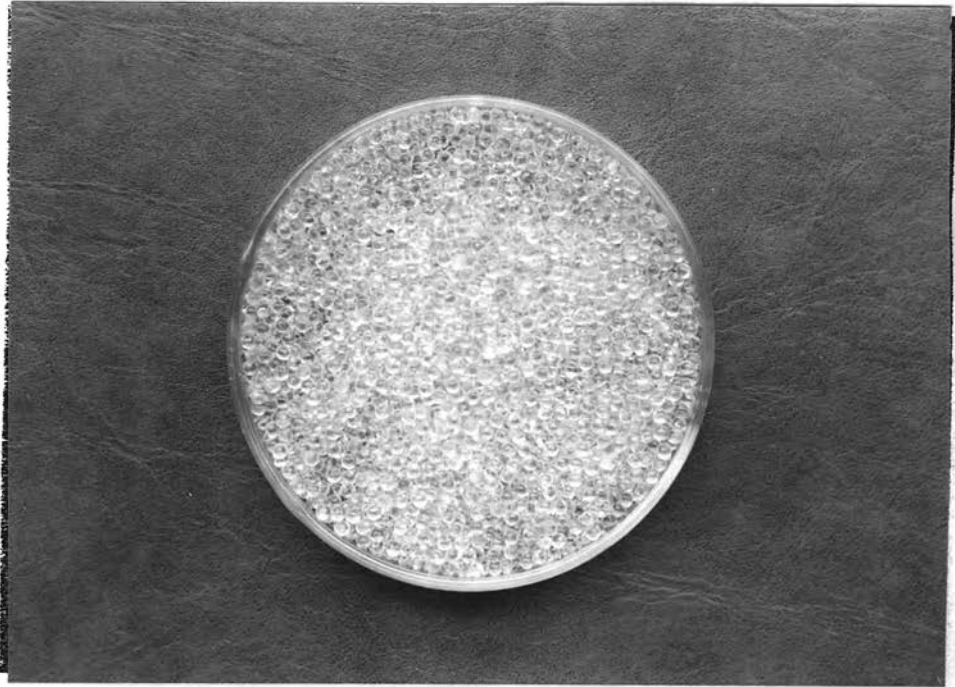
รูปที่ ง-1.1 ลักษณะของคาร์บอนกัมมันต์ที่ใช้ในการตรึงรูป



รูปที่ ง-1.2 ลักษณะของทรายที่ใช้ในการตริงรูป



รูปที่ ง-1.3 ลักษณะของเม็ดแก้วที่ใช้ในการตรึงรูป



ง-2 คุณสมบัติของคาร์บอนกัมมันต์ที่ใช้เป็นเมทริกซ์

คาร์บอนกัมมันต์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้จากการนำกะลามะพร้าว (Coconut shell) มาผ่านกระบวนการดีไฮเดรชัน (Dehydration) คาร์บอนไนเซชัน (Carbonization) และก่อกัมมันต์ (Activated) ด้วยวิธีพิเศษ ทำให้มีโครงสร้างเป็นรูพรุน ซึ่งคุณสมบัติต่าง ๆ ของคาร์บอนกัมมันต์แสดงดังตารางที่ ง-2

ตารางที่ ง-2

| คุณสมบัติ | ค่าที่ได้ |
|--|-------------|
| Surface area (m^2/g) | 1,050-1,150 |
| Iodine number | 1,050 |
| Benzene adsorption (%) | 30 |
| Methylene blue number | 170 |
| Abrasion number | 80 |
| Pore volume (cc/gm) | 0.8-0.9 |
| Moisture (% by wt.) | 5 |
| Hardness number | 98 |
| Ash (% by wt.) | 2 |
| Apparent density (gm/cc) | 0.45-0.50 |



ประวัติผู้เขียน

นางสาว อุษณีย์ กลินทรประเสริฐ เกิดเมื่อวันที่ 2 กันยายน 2508 ที่จังหวัดกรุงเทพฯ ได้รับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา จากคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2530 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเดียวกัน ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2531 โดยได้รับทุนผู้ช่วยวิจัย จากบัณฑิตวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2531 ถึง 2532 ในระหว่างการศึกษามีผลงานทางวิชาการดังนี้

ปี 2534 แสดงผลงานทางวิชาการในหัวข้อเรื่องการตรึงรูปเดกซ์แทรนเนสบนคาร์บอนกัมมันต์ ในการสัมมนาตามโครงการร่วมมือทางวิชาการระหว่าง ไทย-ญี่ปุ่น (NRCT-JSPS) ครั้งที่ 1 ณ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดสงขลา