เอกสารอ้างอิง

1. Windish, W.W. and N.S. Mhatre Microbial Amylase in Advance in Applied Microbiology (W. Wayne Umbreit ed.) Vol. 7 pp. 273-304. Academic Press, New York and London, 1965.
2. Fischer, H., Admond and Eric A. Stein α-Amylase in The Enzyme (P.D. Boyer, and K. Myrback, eds.) Vol. 4 pp. 313-343. Academic Press, New York, 1960.
3. Barfoed, Hans C. "Enzyme in Starch Processing" Cereal Food World 21 (11), (1976) : 588-593.
4. Slott, S., G. Madesen and B.E. Norman Application of a Heat Stable Bacterial Amylase in the Starch Industry in Enzyme Engineering (E.K. Pyre and L.B. Wingard, Jr. eds.) Vol. 2 pp. 343-350, Plenum Publishing Corporation, New York, 1974.
5. Outrup, H.,O. Anderson and K. Aunstrup "Improvements in or Relating to the Preparation of Microbial Enzyme" U.S. Pat. 1,296,839. Nov. 22,1976.
6. Peltier, G.L. and Beckord "Source of Amylase Producing Bacteria" J. Bacteriol. 50 (1954) : 711-714.
7. Coleman, G. and M.A. Grant "Characteristics of α-Amylase Formation by Bacillus subtilis" Nature 211 (1975) : 306-307.
8. Tsuchiya, K., A. Shinjo. K. Shimoyama, M. Okazaki and Y. Miura "Characteristics of α-Amylase Production by Bacillus subtilis KYA 741" J. Ferment. Technol. 53 (4), (1975): 199-206.
9. Welker, N.E. and L.L. Cambell "Comparison of α-Amylase of Bacillus subtilis and Bacillus amyloliquefaciens" J.Bacteriol.: 94 (4), (1967) : 1131-1135.

10. Medda, S. and A.K. Chandra "New Strains of Bacillus licheniformis and Bacillus coagulan Producing Thermostable α-Amylase Action at Alkaline pH" J. Appl. Bacteriol. 48 (1980): 47-58.

11. Morgan, F.T. and F.G. Priest "Characterization of a Thermostable α-Amylase from Bacillus licheniformis NCIB 6346" J. Appl. Bacteriol. 50 (1981) : 107-114.

12. Saito, N. "A Thermophilic Extracellular α-Amylase from Bacillus licheniformis" Arch. Biochem. Biophys. 155 (1973) : 290-298.

13. Cambell, L.L. "Purification and Properties of an α-Amylase from Facultative Thermophilic Bacteria" Arch. Biochem. Biophys 54 (1954) : 154-161.

14. Shinmyo, A., H. Kimura and H. Okada "Physiology of α-Amylase by Immobilized Bacillus amyloliquefaciens" European J. Appl. Biotechnol. 14 (1982) : 7-12.

15. Buonocore, I., C. Caporale, M. De Rosa and A. Gambacorta "Stable, Inducible Thermophilic α-Amylase from Bacillus acidocaldarius" J. Bacteriol. 128 (2), (1976) : 515-521.

16. Chandra, A.K., S. Medda and A.K. Bhadra "Production of Extracellular Thermostable α-Amylase by Bacillus licheniformis" J. Ferment. Technol. 58 (1) (1980) : 1-10.

17. Yutani, K., I. Sasaki and K. Ogasahare "Comparison of Thermostable α-Amylase from Bacillus stearothermophilus Grown at Different Temperatures" J. Biochem. 74 (1973) : 573-579.

18. Boyer, E.W. and M.B. Ingle "Extracellular Alkaline Amylase from a Bacillus Species" J. Bacteriol. 110 (3), (1972) : 992-1000.

19. Ingle, M.B. and R.J. Erickson Bacterial α-Amylase in Advances in Applied Microbiology (D. Perlman ed.) Vol. 24 pp. 257-278. Academic Press, New York and London, 1978.

20. Stark, E. and P.D. Tetrault "Isolation of Bacterial Cell-Free Starch Saccharifying Enzyme from the Medium at 70°C" J. Bacteriol. 62 (1951) : 247-249.

21. Hartman, P.A., R. Jr. Willerson and P.A. Tetrault "Bacillus stearothermophilus I Thermal and pH Stability of the Amylase" Appl. Microbiol. 3 (1955) : 7-10.

22. Fukumoto, J. "Studies on Bacterial Amylase II Bacterial and Physiological Nature" J. Agric. Chem. Soc. Japan 19 (1943) : 634-640.

23. Nomura, M., B. Maruo and S. Akabori "Studies on Amylase Formation by Bacillus subtilis I Effect of High Concentration of Polyethylene Glycol on Amylase Formation by Bacillus subtilis" J. Biochem. (Tokyo) 43 (1956) : 143-152.

24. Nomura, M., J. Hosada, B. Maruo and S. Akabori "Studies on Amylase Formation by Bacillus subtilis II Effect of Amino Acid Analogues on Amylase Formation by Bacillus subtilis : an Apparent Competition between Amylase Formation and Normal Cellular Protein Synthesis" J. Biochem. (Tokyo) 43 (1956) : 841-845.

25. Coleman, G. and W.H. Elliott "Studies on α-Amylase Formation by Bacillus subtilis" Biochem. J. 83 (1962) : 256-263.

26. Welker, N.E. and L.L. Campbell "Induced Biosynthesis of α-Amylase by Growing Cultures of Bacillus stearothermophilus" J. Bacteriol. 86 (1963) : 1196-1201.

27. Lampen, J.O. in "Function and Structure in Microorganism" (M.R. Pollock and M.H. Richmond, eds.) pp. 115-133. Cambridge University Press, London and New York, 1965.

28. Fukumoto. J., T. Yamamoto and D. Tsuru "Amylase Formation and Carbon Source Metabolism of Bacillus subtilis" Proc. Intern. Symp. Enzyme Chem. Tokyo, Kyoto pp. 365-369, Maruzen, Tokyo 1957.

29. Fukumoto, J., T. Yamamoto, D. Tsuru and K. Ichikawa "Problems on Bacterial Amylase and Proteinase Production" Proc. Intern. Symp. Enzyme Chem. Tokyo, Kyoto pp. 479-482, Maruzen, Tokyo 1957.

30. Stockton, J.R. and O. Wyss "Proteinase Production by Bacillus subtilis" J. Bacteriol. 52 (1947) : 227-228.

31. Hamada, N., T. Yamamoto and J. Fukumoto " α-Amylase Formation and Calcium Metabolis of Bacillus subtilis" Agric. Biol. Chem. 31 (1967) : 1-6.

32. Mitzygi,K.,N.Kobayashi, T. Shida and Y. Yokokawa "Alpha Amylase from Bacillus subtilis" U.S. Pat. 4,022,666 May 10, 1977.

33. Boyer, E.W. and M.B. Ingle "Preparation of Alkaline Alpha-Amylase" U.S. Pat. 4,061,541 Dec. 6, 1977.

34. Horikoshi, K., Y. Ikeda and Y. Tanaka "Novel Amylase and Process for Preparing the Same" U.S. Pat. 3,826,715 July 30. 1974.

35. Tetrault, P.D. and E. Stark "Process for Preparation Alpha Amylase" U.S. Pat. 2,695,863 Nov. 30, 1954.

36. Tauber, Henry Bacterial Fermentations in Enzyme Technology pp. 104-105. John Wiley and Son Inc., New York, 1943.

37. กรรณิกา บันสิทธิ จลีพร โกลากุล กัญญา นวลแข และเสถียร รุจิรวณิช "การศึกษาปริมาณนำเข้าและปริมาณการใช้เอนไซม์ โบรมิเลน ไอโซเมอเรส และอะไมเลส" รายงานผลการวิจัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2525 หน้า 8-10.

38. Kinoshita, S., H. Okada and G. Terui "On the Nature of the α-Amylase Forming System in Bacillus subtilis. Stability of the mRNA for α-Amylase" J. Ferment. Technol. 46(1968): 427-436.

39. Bernfeld, P. Amylase, α and β in Methods in Enzymology (Colowick, P.S. and O.N. Kaplan eds.) Vol. 1 pp. 149. Academic Press Inc., Publishers, New York, 1955.

40. Robyt, J.F. and D. French "Action Pattern and Specificity of an Amylase from Bacillus subtilis" Arch. Biochem. Biophys. 100 (1963) : 451-467.

41. บุญเทียม พันธ์เพ็ง "การหมักแอลกอฮอล์จากแป้งมันสำปะหลังดิบ" รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 21 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาอุตสาหกรรมเกษตร 31 มกราคม - 2 กุมภาพันธ์ 2526 หน้า 36-46.

42. Lowry, O.H., N.J. Rosenbrough and R.J. Randall "Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent" J. Biol. Chem. 193 (1951): 276-304.

43. ขจีนาฏ จรรยาอุดม "การทำให้บริสุทธิ์บางส่วน และการศึกษาคุณสมบัติของกลูโคสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซีส 190-1" วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2528 หน้า 97.

44. Nelson, D.W. and L.E. Sommers Total Carbon, Organic Carbon and Organic Matter in Methods of Soil Analysis Part II - Chemical and Microbiological Properties (A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keenly eds.) 2 nd. Edition, American Society of Agronomy, Inc. Madeson, Wiscosin, U.S.A., 1982.

45. Bremner, J.M. and A.D. Edwards "Analysis of Different Form of Nitrogen in Soil" Soil Sci. Society Proc. 29 (1965) : 504-507.

46. Takagi, T., H. Toda and T. Isemura Bacterial and Mold Amylase in The Enzyme (P.D. Boyer, H. Lardy, and K. Myrback) 3 rd. Edition, Vol. 5 pp. 235-271. Academic Press, New York, 1971.

47. Priest, G., Fergus "Extracellular Enzyme Systhesis in the Genus Bacillus" Bacteriol. Revs. 41 (3) (1954) : 711-753.

48. Kinoshita, S. Bacterial α-Amylase in Annual Report of ICME (Taguchi, H. ed.) 3 (1980) : 413-431.

49. Nomura, M., J. Hosada and H. Yoshikawa "Studies on Amylase Formation by Bacillus subtilis VI The Mechanism of Amylase Excretion and Cellular Structure of Bacillus subtilis" J. Biochem. 45 (9) (1958) : 867-897.

50. Stein, E.A. and E.H. Fischer "The Resistance of α-Amylase towards Proteolytic Attack" J. Biol. Chem. 232 (1958) : 867-897.

51. บุหลัน พิทักษ์ผล "อาหารโปรตีนสูงจากพืชตระกูลถั่ว" วารสารส่งเสริมการเกษตร 10 (2) (2519) : 59-66.

52. Horikoshi, K. "Production of Alkaline Enzyme by Alkalophilic Microorganism Part II Alkaline Amylase Produced by Bacillus No. A-40-2" Agric. Biol. Chem. 35 (11) (1971) : 1783-1791.

53. Darbyshire. J. Large Scale Enzyme Extraction and Recovery in Topics in Enzyme and Fermentation Biotechnology (Alan Wiseman ed.) Vol. 5, pp. 147-164. John Wiley and Son, New York, 1981.

54. Sasaki, T., M. Yamasaki, B. Maruo, Y. Yoneda, K. Yamane, A. Takatsuki and G. Tamura "Hyperproductivity of Extracellular α-Amylase by a Tunicamycin Resistant Mutant of Bacillus subtilis"

Biochem. Biophys. Res. Commun. 70 (1) (1976) : 125-130.

55. Yoneda, Y. and B. Maruo "Mutation of Bacillus subtilis Causing Hyperproduction of α-Amylase and Protease and Its Synergistic Effect" J. Bacteriol. 124 (1) (1975) : 48-54.

56. Shinomiga, S., K. Yamane and T. Oshima "Isolation of Bacillus subtilis Transformant Producing Thermostable α-Amylase by DNA from a Thermophilic Bacterium" Biochem. Biophys. Res. Commun. 96 (1) (1980) : 175-179.

ภาคผนวก

1. สูตรอาหารที่ใช้ในการวิจัย

1.1 สูตรอาหารสำหรับเก็บรักษาเชื้อ (stock culture medium) (38) ใน 1 ลิตร ประกอบด้วย

โพลีเปปโตน (polypeptone)	10.0	กรัม
ผงสกัดจากเนื้อ (beef extract)	5.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	3.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ ($NaCl$)	5.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.2	กรัม
แมงกานีสคลอไรด์ ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$)	0.01	กรัม
วุ้นผง (agar)	15.0	กรัม

นึ่งฆ่าเชื้อที่สภาวะมาตรฐาน

1.2 สูตรอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ (starter or inoculum medium) (38) ใน 1 ลิตร ประกอบด้วย

โพลีเปปโตน	10.0	กรัม
ผงสกัดจากเนื้อ	10.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5.0	กรัม
ถ้าเป็นอาหารแข็งเติมวุ้นผง	15.0	กรัม

นึ่งฆ่าเชื้อที่สภาวะมาตรฐาน

1.3 สูตรอาหารสำหรับผลิตแอลฟาอะไมเลส ปรับปรุงจากสูตรของ Shinmyo et.al.(14) ใน 1 ลิตรประกอบด้วย

แป้งมันสำปะหลัง (บริษัทไทยเรือง) (cassava starch)	20	กรัม
กากถั่วเหลืองจากการสกัดน้ำมัน (defatted soybean)	40	กรัม
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	0.5	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.2	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$)	0.1	กรัม

นึ่งฆ่าเชื้อที่สภาวะมาตรฐาน

1.4 สูตรอาหารสำหรับผลิตแอลฟาอะไมเลส ปรับปรุงใหม่จากการศึกษาการผลิตในขวดแก้วทรงกรวย ใน 1 ลิตร ประกอบด้วย

แป้งมันสำปะหลัง	30	กรัม
กากถั่วเหลือง	40	กรัม
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	1.5	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.2	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์	0.1	กรัม

นึ่งฆ่าเชื้อที่สภาวะมาตรฐาน

1.5 สูตรอาหารสำหรับผลิตแอลฟาอะไมเลส ปรับปรุงใหม่จากการศึกษาการผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร ใน 1 ลิตร ประกอบด้วย

แป้งมันสำปะหลัง	30	กรัม
กากถั่วเหลือง	40	กรัม
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.75	กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.85	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.2	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์	0.1	กรัม

นึ่งฆ่าเชื้อที่สภาวะมาตรฐาน

1.6 การเตรียมสารละลายของแหล่งไนโตรเจนโดยการย่อยด้วยกรดกำมะถัน (43)

ชั่งกากถั่วเหลืองที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 20 เมช (mesh) หรือ กากรำข้าวที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 เมช เติมกรดกำมะถันเข้มข้น 1 นอร์มอล (normal) 40 มล. นำไปใส่หม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้วอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 40 นาที สกัด 2 ครั้ง ด้วยน้ำปริมาตร 50 และ 30 มล. ตามลำดับ ทำให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 โมลาร์ ทำปริมาตรสุดท้ายเป็น 120 มล.

2. การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

2.1 การเตรียมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (dinitrosalicylic acid : DNSA reagent)

ละลาย 1 กรัมของกรดไดไนโตรซาลิไซลิก ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2 โมลาร์ 20 มล. เติมน้ำกลั่นลงไป 50 มล. เติมโปแตสเซียมโซเดียมตาเตรท $(C_4H_4KN_aO_6 \cdot 4H_2O)$ 30 กรัม ทำปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น

2.2 การเตรียมสารละลายที่ใช้ใน SKB Method ซึ่งปรับปรุงใหม่โดยไม่ใช้เบตาอะไมเลส

2.2.1 สารละลายไอโอดีนเข้มข้น (stock iodine solution) ละลายผลึกไอโอดีน (iodine crystal) 11 กรัม และโปแตสเซียมไอโอได (KI) 22 กรัมในน้ำและทำปริมาตรสุดท้ายเป็น 500 มล.

2.2.2 สารละลายไอโอดีนเจือจาง (diluted iodine solution) เติมสารละลายไอโอดีนเข้มข้นในข้อ 2.2.1 ปริมาตร 2 มล. ลงในโปตัสเซียมไอโอได 20 กรัม และทำปริมาตรสุดท้ายเป็น 500 มล.

2.2.3 สารละลายบัฟเฟอร์ ใน 1 ลิตรประกอบด้วย

โซเดียมคลอไรด์	9.36	กรัม
โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	69.00	กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	4.80	กรัม

2.3 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในเอสเซนดิงเปเปอร์โครมาโตกราฟฟี

2.3.1 สารละลายซิลเวอร์ไนเตรทในอะซิโตน เติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทอิ่มตัว 1 มล. ลงในน้ำ 6 มล. เติมอะซิโตนปริมาตร 200 มล.

2.3.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในเมธานอล สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 10 100 มล. ผสมกับเมธานอลปริมาตร 500 มล.

2.4 การเตรียมสารละลายที่ใช้ใน Kjeldahl Method

2.4.1 ของผสมของเกลือ (salt mixture) : ประกอบด้วยโปแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 250 กรัม คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) 50 กรัม และแมททัลลิกเซเลเนียม (metallic selenium) 5 กรัม

2.4.2 อินดิเคเตอร์ผสม (mixed indicator) : ละลายบรอมคลีซอลกรีน (brom cresol green) 0.3 กรัม และเมธิลเรด (methyl red) 0.2 กรัม ในเอธานอล (ethanol) เข้มข้นร้อยละ 90 ปริมาตร 400 มล.

2.4.5 สารละลายมาตรฐานกรดเกลือ (HCl) เข้มข้น 0.05 โมลาร์ หาความเข้มข้นแน่นอนโดยการติเตรท กับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์

2.5 การเตรียมสารละลายที่ใช้ใน Walkley - Black Method

สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4$) เข้มข้น 0.5 โมลาร์ หาความเข้มข้นแน่นอนโดยการติเตรทกับสารละลายมาตรฐานโปแตสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) โดยใช้สารละลายเฟอโรอีน (ferroin solution) เป็นอินดิเคเตอร์

2.6 การเตรียมสารละลายที่ใช้ใน Lowry's Method

2.6.1 สารละลาย Lowry A ประกอบด้วย

โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	60	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์	12	กรัม
โซเดียมโปแตสเซียมตาเตรท ($C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$)	0.6	กรัม
น้ำ	300	มล.

2.6.2 สารละลาย Lowry B ประกอบด้วย

คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)	50	กรัม
น้ำ	1000	มล.

2.6.3 สารละลาย Lowry C ประกอบด้วย

สารละลาย Lowry A	50	มล.
สารละลาย Lowry B	1	มล.

3. วิธีการวิเคราะห์มาตรฐานที่ใช้ในการวิจัย

3.1 การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ โดยวิธีของ Bernfeld

เติมสารละลายไดไนโตรซาลิไซลิก (ภาคผนวก 2.1) 1 มล. ลงในตัวอย่าง 1 มล. ต้มในอ่างน้ำเดือด นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำ 10 มล. เขย่าให้เข้ากัน วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

ทำกราฟมาตรฐาน โดยใช้สารละลายมอลโตสหรือสารละลายกลูโคสมาตรฐานเข้มข้น 0.1 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 มก./มล. และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวเทียบ (blank) เขียนกราฟระหว่างปริมาณน้ำตาลมอลโตส หรือกลูโคสกับค่าดูดกลืนแสง

3.2 การหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธี Kjeldahl's Method

ชั่งตัวอย่าง 1 กรัมใส่ลงใน Kjeldahl's Flask ขนาด 100 มล. เติมของผสมของเกลือ (ภาคผนวก 2.4) ซึ่งละลายในกรดกำมะถันเข้มข้น 20 มล. นำไปย่อยบนเตาหลุมจนได้สารละลายใสในตู้ควัน ทิ้งไว้ให้เย็น ทำปริมาตรให้เป็น 250 มล. ดูดสารละลายมา 25 มล. ใส่ในขวดกลั่น เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 ปริมาตร 10 มล. ผ่านไอน้ำจากหม้อต้มไปยังขวดกลั่น จับแอมโมเนียที่เกิดขึ้นโดยใช้สารละลายกรดบอริก (H_3BO_3) เข้มข้นร้อยละ 4 ซึ่งมีอินดิเคเตอร์ (ภาคผนวก 2.4) อยู่ 4-5 หยด กลั่นตัวอย่างไม่น้อยกว่า 8 นาที นำสารละลายที่ได้มาติเตรทกับสารละลายมาตรฐานกรดเกลือ (ภาคผนวก 2.4) โดยที่

$$\text{ร้อยละของไนโตรเจน} = \frac{(\text{ปริมาตรติเตรทของตัวอย่าง} - \text{ปริมาตรติเตรทของตัวเทียบ})}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง}} \times \text{ความเข้มข้นของกรด} \times 14$$

ใช้น้ำเป็นตัวเทียบ

3.3 การหาปริมาณคาร์บอนอินทรีย์ (organic carbon) โดยวิธี Walkley-Black Method

ชั่งตัวอย่าง 0.05 กรัม เติม 10 มล. ของสารละลายโปแตสเซียมไดโครเมต เข้มข้น 1 โมลาร์ ทิ้งไว้สักครู่ เติม 10 มล. ของกรดกำมะถันเข้มข้น ทิ้งไว้ค้างคืน เติมน้ำ 50 มล. และกรดฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 85 ปริมาตร 2 มล. เติมสารละลายเฟอโรอิน

(ferroin selution) 2-3 หยด ติเตรทกับสารละลายเฟอรัสซัลเฟตเข้มข้น 0.5 โมลาร์ (ภาคผนวก 2.5) จุดยุติเป็นสีน้ำตาลแดง โดยที่

$$\text{ร้อยละของคาร์บอนอินทรีย์} = (\text{ปริมาตรติเตรทตัวเทียบ} - \text{ปริมาตรติเตรทของตัวอย่าง}) \times \text{ความเข้มข้นของเฟอรัสซัลเฟต} \times \frac{0.39}{0.05}$$

ใช้น้ำเป็นตัวเทียบ

3.4 การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry's Method

ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่มีโปรตีนอยู่ในช่วง 10-200 ไมโครกรัม/มล. ลงในสารละลาย Lowry C (ภาคผนวก 2.5) ปริมาตร 5 มล. ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 20 นาที เติมสารละลายฟีนอลรีเอเจนต์ (Folin ciocalteu's phenol reagent) ที่เจือจาง 1:1 ในน้ำ 0.5 มล. ผสมให้กัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที นำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับค่าดูดกลืนแสดงของสารละลายมาตรฐานโบวีนเซรัมอัลบูมิน (bovine serum albumin)

ประวัติ

นาย พิเชฐ อิฐกอ เกิดวันที่ 9 พฤษภาคม พ.ศ. 2504 ในจังหวัดนครศรีธรรมราช ได้รับปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาชีวเคมี จากคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในปีการศึกษา 2524