

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กนิษฐา ภูวนารถนรานูบาล. 2542. การเพาะเลี้ยง *Aspergillus oryzae* K13 บนผิวหน้าอาหารเหลว เพื่อผลิตกรดโคจิก. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท สาขาวิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เพชรรุ่ง พันธุ์พิริยะ. 2536. การคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อผลิตกรดโคจิก. รายงานการวิจัยโครงการส่งเสริมประสบการณ์ในเชิงวิทยาศาสตร์ ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- รพี โรจนอุไร. 2539. ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโคจิกโดย *Aspergillus oryzae* K13 ในระดับขวดเขย่า. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท สาขาวิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

- Aidoo, K.E., Hendry, R. and Wood, B. J. B. 1982. Solid substrate fermentations. Adv. in Appl. Microbiol. 28: 201 - 237.
- Ariff, A. B., Salleh, M. S., Ghani, B., Hassan, M. A., Rusul, G. and Karim, M. I. A. 1996. Aeration and yeast extract requirements for kojic acid production by *Aspergillus flavus* Link. Enzyme Microb. Technol. 19 (15): 545 - 550.
- Ariff, A. B., Rosfarizan, M., Heng, L.S., Madihah, S. and Karim, M. I. A. 1997. Kinetics and modelling of kojic acid production by *Aspergillus flavus* Link in batch fermentation and resuspended mycelial system. World Microbiol. Biotech. J. 13: 195 - 201.
- Arnstein, H. R. V. and Bentley, R. 1951. The mechanism of alkaline cleavage of some γ -pyrone. J. Chem.Soc. 3436 - 3439.
- Arnstein, H. R. V. and Bentley, R. 1953. The biosynthesis of kojic acid. Biochem. J. 54: 493 - 508.
- Bajpai, P., Agrawala, P. K. and Vishwanathan, L. 1981. Enzyme relevant to kojic acid biosynthesis in *Aspergillus flavus*. J. Gen. Microbiol. 127: 131 - 136.
- Bajpai, P., Agrawala, P. K. and Vishwanathan, L. 1982a. Kojic acid:synthesis and properties. J. Sci. Ind. Res. 41: 185 - 194.

- Bajpai, P., Agrawala, P. K. and Vishwanathan, L. 1982b. Production of kojic acid by resuspended mycelia of *Aspergillus flavus*. Can. J. Microbiol. 28: 1340 - 1346.
- Barnard, D. and Challenger, F. 1949. The formation of kojic acid from ethyl alcohol by *Aspergillus oryzae*, and the action of this mold on some carbohydrate derivatives. J. Chem. Soc 110: 110 - 117.
- Barham, H. N. and Smith, B. L. 1936. Kojic acid: A review. Trans. Kansas. Acad. Sci. 37: 91 - 113 cited in Bajpai, P., Agawal, P. K. and Vishwanathan, L. 1982. Kojic acid: Synthesis and properties. J. of Sci. and Ind. Res. 41: 185 - 194.
- Basappa, S. C., Screenivasamurthy, V. and Parpia, H. A. B. 1970. Alflatoxin and kojic acid production by resting cells of *Aspergillus flavus* Link. J. Gen. Microbiol. 61: 81 - 86.
- Beelik, A. 1956. Kojic acid. Adv. Carbohydr. Chem. 11: 145 - 183.
- Bentley, R. 1957. Preparation and analysis of kojic acid. In S. P. Colowick and N. O. Kaplan (eds.), Methods in enzymology., pp. 238 - 241. New York: Academic Press. pp. 238 - 241.
- Bernfeld, P. 1995. Amylase α and β . In S. P. Colowick and N. O. Kaplan (eds.), Method in enzymology. Vol. 1. New York: Academic Press. p. 149.
- Bigelis, R. and Tasi, S. P. 1995. Microorganisms for organic acid production. In Y. H. Hui and G. G. Khachatourians (eds.), Food biotechnology: Microorganisms. pp. 264 - 265. New York: VCH Publisher.
- Bohumill, S. 1983. Development of microbial processes. In. M.O. Moss (eds.), Method in industrial microbiology. Ellis Horwood Limited, England.
- Bryant, B. E. and Fernelius, W. C. 1954. Some metal complexes of kojic acid. J. Chem. Soc. 76 (5): 5351 - 5352.
- Cabanes, J., Garcia - Canovas, F., Lozano, J. A. and Garcia - Carmona, F. 1987. A kinetic study of the melanization pathway between L - tyrosine and dopachrome. Biochimica et Biophysica Acta. 923: 187 - 195.
- Cabanes, J., Chazarra, S. and Garcia - Carmona, F. 1994. Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow - binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase. J. Pharm. Pharmacol. 46: 982 - 985.
- Campbell, A. L. and Miyano, M. 1989. Kojic acid ether - ester derivatives. US Patent, 4812474.

- Casida, L. E. 1968. Organic acids. Industrial microbiology. New York: John Wiley and Sons. pp. 411 - 412.
- Challenger, F., Klein, L. and Walker, T. K. 1929. The production of kojic acid from pentoses by *Aspergillus oryzae*. J. Chem. Soc. 1499 - 1505.
- Chen, J. S., Wei, C. and Marshall, M. R. 1991a. Inhibition mechanism of kojic acid on polyphenol oxidases. J. Agric Food Chem. 39 (11): 1897 - 1901.
- Chen, J. S., Wei, C., Rolle, R. S., Otwell, W. S., Balaban, M. O. and Marshall, M. R. 1991b. Inhibitory effect of kojic acid on some plant and crustacean polyphenol oxidase. J. Agric Food Chem. 39 (11): 1396 - 1401.
- Corbellini, A. and Gregorini, B. 1933. Laformazione dell'acidokojico per mezzo di *Aspergillus flavus*. Gazz. Chim. Ital. 63: 296 - 302 cited in Bajpai, P., Agrawal, P. K. and Vishwanathan, L. 1982. Kojic acid: Synthesis and properties. J. Sci. Ind. Res. 41: 185 - 194.
- Coupland, K. and Niehaus, W. G. 1987. Effect of nitrogen supply, Zn^{2+} , and sult concentration kojic acid and versicorin biosynthesis by *Aspergillus parasiticus*. Exper. Mycol. 11: 206 - 213.
- Crueger, W. and Crueger, A. 1990. Organic acids. In T. D. Brock (ed), Biotechnology: A textbook of industrial microbiology., Sunderland: Sinauer Associates. p. 148.
- Dowd, P. E. 1990. Kojic acid and ester as insecticide synergists. US Patent, 4956353.
- Drysdale, C. R. and McKay, A. M. 1995. Citric acid production by *Aspergillus niger* in surface culture on inulin. Lett. Appl. Microbiol. 20: 248 - 257.
- Elander, R. P. and Chang, L. T. 1979. Microbial culture selection. Microbial technology: Fermentation technology, vol 2. In H. J. Peppler and D. Perlman (eds.). New York: Academic Press.
- Garg, K. and Sharma, C. B. 1991. Repeated batch production of citric acid from sugarcane molasses using recycled solid - state surface culture of *Aspergillus niger*. Biotechnology letters. 13 (12): 913 - 916.
- Gray, W. D. 1959. Synthesis of kojic acid. The relation of fungi to human affires. New York: Henry Holt And Company. pp. 248 - 257

- Gastrock, E. A., Porges, N., Well, P. A. and Moyer, A. J. 1938. Gluconic acid production on pilot - plant scale: Effect of variables on production by submerged mold growths. Ind. Eng. Chem. 30: 782 - 789.
- Gould, B. S. 1938. The metabolism of *Aspergillus oryzae.tamarii* Kita. Kojic acid production. Biochem. J 32: 797. cited in Bajpai, P., Agrawal, P. K. and Vishwanathan, L. 1982. Kojic acid: Synthesis and properties. J. of Sci. and Ind. Res 41: 185 - 194.
- Hara, K. 1990. Composition for external application. US Patent, 4948577.
- Hatae, S. 1990a. Composition for topical use having melanin synthesis - inhibiting. US Patent, 4919921.
- Hatae, S. 1990b. Method of minimizing erythema and elastosis. US Patent, 4891361.
- Hatae, S. and Nakashima, K. 1989. Whitening cosmetic. US Patent, 4847074.
- Haworth, W. N. 1929. Theconstitute of sugers. London: Arnold, dward Publishers. Cited in Bajpai, P., Agrawal, P. K. and Vishwanathan, L. 1982. Kojic acid: Synthesis and properties. J. Sci. Ind. Res. 41: 185 - 194.
- Herold, M. and Necasek, J. 1959. Protected fermentation. Adv. Appl. Microbiol. 1: 1 - 21. Cited in Bohumill, S. 1983. Methods in Industrial Microbiology. England: Ellis Horword. pp. 269 - 273.
- Higa, Y. 1987. Melanin inhibiting cosmetic composition. US Patent, 4696813.
- Hockenhull, D. J. D. 1975. The fermentation pilot - plant and its aim. Adv. Appl. Microbiol. 19: 187 - 208 Cited in Bohumill, S. 1983. Method in industrial microbiology. England: Ellis Horword. pp. 253 - 255.
- Horn, B. W., Greene, R. L., Sobolev, V. S., Dorner, J. W. and Powell, J. H. 1996. Association of morphology and mycotoxic production with vegetative compatibility group in *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* and *A. taramii*. Mycologia. 88 (4): 574 - 587.
- Igaki, T. 1997. Preparation for epidermis. US Patent, 5599528.
- Ikeda, Y. 1954. Kojic acid fermentation.: III.Production of reductone like substance and its antibiotic activity. J. Agric. Chem.Soc. Japan. 26 (1952): 90 - 95. Chem. Abst. 48: 10113.
- Jacqueline, G. 1996. Stable acidic oil – in - water type emulsion and compositions containing them. US Patent, 5531993.
- Jendins, D. and Medskr, L. L. 1964. Brucine method for determination of nitrate in ocean, estuarine, and fresh water. Anal. Chem. 36 (3): 610 - 612.

- John, H. M. and Chris, O. 1996. Bis (maltolato) oxovanadium compositions for the treatment of elevated blood sugar. US Patent, 5527790.
- Junko, K., Yasushi, N. and Takahide, T. 1998. Synthetic medium for production of kojic acid. JP Patent, 10165172A.
- Justin, O. N. 1989. Bioprocess technology in industrial fungi. Fermentation process development of industrial organisms. New York: Marcel Dekker. pp. 169 - 211.
- Kahn, V. 1995. Effect of kojic acid on oxidation of DL - DOPA, norepinephrine, and dopamine by mushroom tyrosinase. Pigment Cell Res. 8: 234 - 240.
- Kahn, V., Ben - Shalom, N. and Zakin, V. 1997. Effect of kojic acid on the oxidation of N - acetyldopamine by mushroom tyrosinase. J. Agric. Food. Chem. 45 (11): 4460 - 4465.
- Kahn, V., Lindner, P. and Zakin, V. 1995. Effect of kojic acid on the oxidation of *o* - dihydroxyphenols by mushroom tyrosinase. J. Agric. Food. Chem. 45 (11): 253 - 271.
- Katagiri, H. and Kitahara, K. 1933. Formation of kojic acid by *Aspergillus oryza*. Mem. Coll. Agric. Kyoto. Imp. Univ. 26 (1933): 1 - 29. Chem. Abst. 27: 3235.
- Kinoshita, K. 1927. Uder die ernahrung der pilze mit dn kobaltaminkomplxsalzan. Acta. Phytochim. Japan. 3: 31 - 50. Cited in Prescott, S. C. and Dunn, C. G., 1959. Industrial microbiology. New York: McGraw - Hill. pp. 609 - 618.
- Kouno, N. and Suzuoki, J. 1994. Acid dye staining method. US Patent, 5284560.
- Kwak, M. Y. and Rhee, J. S. 1992a. Controlled mycelial growth for kojic acid production using Ca - alginate - immobilized fungal cells. Appl. Microbiol. Biotech. 36: 578 - 583.
- Kwak, M. Y. and Rhee, J. S. 1992b. Cultivation characteristic of immobilized *Aspergillus oryzae* for kojic acid production. Biotech. Bioeng. 39 (9): 903 - 906.
- LeBlanc, D. T. and Akers, H. A. 1989. Moltol and ethyl moltol: From the Larch tree to successful food additives. Food. Tech. 26: 78 - 87.
- Lin, M. T., Mahajan, J. R., Dianese, J. C. and Takatsu, A. 1976. High production of kojic acid crystal by *Aspergillus parasiticus* UNBF A12 in liquid medium. Appl. Environ. Microbiol. 32 (1): 298 - 299.
- Lokaj, J., Kozisek, J., Koren, B., Uher, M. and Vrable, V. 1991. Structure of kojic acid. Acta. Cryst. C47: 193 - 194.
- Masateru, M. and Shone, R. L. 1989. Aralkoxy and aryloxyalkoxy kojic acid derivatives. US Patent, 4812584.

- May, O. E., Moyer, A. J., Wells, P. A. and Herrick, H. T. 1931. The production of kojic acid by *Aspergillus flavus*. J. Am. Chem. Soc. 53: 774 - 782.
- McCulloch, C. R. 1961. Polyurethane chelates from kojic acid. US Patent, 2986553. Chem. Abst. 55: 19332.
- McNeill, J. H., Hoveyda, H. R., Orvig, C., Zhou, Y. and Fellmann, J. D. 1995. Method of suppressing appetite with vanadium. US Patent, 5688784.
- Merck. 1989. Encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. In S. Budavari, M. J. O. Nell, A. Smith and P. E. Heckelmans. (eds.), The Merck Index., New Jersey: Merck. p.838.
- Meybeck, A. 1994. Pharmaceutical or cosmetic composition containing hydroquinone and kojic acid. US Patent, 5279834.
- Miyano, M., Deason, J. R., Nakao, A., Stealey, M. A., Villamil, C. I., Sohn, D. D. and Mueller, R. A. 1988. (Acyloxy) benzophenones and (Acyloxy) - 4 - pyrones. A new class of inhibitors of human neutrophil elastase. J. Med. Chem. 31: 1052 - 1061.
- Moore - Landecker, E. 1996. Physiology and reproduction. Fundamentals of the fungi. London: Prentice Hall International (UK). pp. 246 - 336.
- Morton, H. E., Kocholaty, W., Junowicz, K. R. and Kelner, A. 1945. Toxicity and antibiotic activity of kojic acid produced by *Aspergillus luteo - virescens*. J. of Bacteriol. 50: 579 - 584.
- Motono, M. 1991. External preparations free of discoloration. US Patent, 4985455.
- Murray, R. K., Grawner, D. K., Mayers, P. A. and Rodwell, V. W. 1993. Section II: Bioenergetics and the metabolism of carbohydrates and lipid; Section III: Metabolism of proteins and amino acid. Harper's biochemistry. New York: Appleton and Lange. pp. 152 - 334.
- Nagai, S. and Izumi, T. 1981. Cosmetic composition containing kojic acid ester. US Patent, 4278656.
- Nagai, S. and Izumi, T. 1983. Cosmetic composition containing kojic acid ester. US Patent, 4369174.
- Nishimura, T., Kometani, T., Takii, H., Terada, Y. and Okada, S. 1994. Acceptor specificity in the glucosylation reaction of *Bacillus subtilis* X - 23 α - amylase towards various phenolic compounds and the structure of kojic acid glucoside. J. of Fer. and Bioeng. 78: 37 - 41.
- Niwa, Y. and Akamatsu, H. 1991. Kojic acid scavenges free radicals while potentiating leucocyte functions including free radical generation. Inflammation 15 (4): 303 - 315.

- Obata, H., Fugiwara, N., Tanishita, J and Taduysma, T. 1984. Studies on the reduction of 2, 6 - Dichlorophenolindophenol by 6 - substituted - 3 - hydroxy - 4 - pyrones, Using a stopped - flow method. Agric. Biol Chem. 48: 2615 - 2619.
- Ogawa, A., Wakisaka, Y., Tanaka, T., Sakiyama, T. and Nakanishi, K. 1995. Production of kojic acid by membrane surface liquid culture of *Aspergillus oryzae* NRRL 484. J. Ferment. Bioeng. 80 (1): 41 - 45.
- Ohara, I. 1954. Classification of *Aspergillus taramii* - *oryzae* group.:I. The production of kojic acid from various compounds as aid in identification. Res. Bull. Fac. Agric. Gifu. Univ. 1 (1951): 71 - 85. Chem Abst. 48: 12884.
- O'Kane, W. C. and Morey, G. H. 1949. Fungicidal compositions. US Patent, 2460188. (1949). Chem. Abst. 43: 4419.
- Oyama, Y. 1991. Composition for topical use having melanin synthesis - inhibiting activity. US Patent, 4990330.
- Parrish, F. W., Wiley, B. J., Simmons, E. G. and Long, L. 1966. Production and alfatoxins and kojic acid species of *Aspergillus* and *Penicillium*, Appl. Microbiol. 14 (1): 139.
- Porges, N., Clark, T. F. and Gastrock, E. A. 1940. Gluconic acid production: Repeated use of submerged *Aspergillus niger* for semicontinuous production. Ind. End. Chem. 32: 107 - 111.
- Prescott, S. C. and Dunn, C. G. 1959. The kojic acid fermentation. Industrial Microbiology. New York: McGraw - Hill. pp. 609 - 618.
- Rosfarizan, M., Ariff, A. B., Hassan, M. A. and Karim, M. I. A. 1998. Kojic acid production by *Aspergillus flavus* using gelatinized and hydrolyzed sago starch as carbon source Folin Microbiol. 43 (5): 459 - 464.
- Rosfarizan, M., Madihah, S. and Ariff, A. B. 1998. Isolation of kojic acid - producing fungus capable of using starch as carbon source. Lett. Appl. Microbiol. 26: 27 - 30.
- Rosfarizan, M. and Ariff, A. B. 2000. Kinetics of kojic acid fermentation by *Aspergillus flavus* using different types and concentrations of carbon and nitrogen sources. J. of Ind. Microbiol Biotechnol. 25: 20 - 24.
- Saito, K. 1907. Uber die saurebildung bei *Aspergillus oryzae*. Bot. Mag. Tokyo. 21: 7 - 11. cited in Gray, D. W. 1959. The relation of fungi to human affairs. New York: Henry Holt A. pp.248 - 257.

- Sakaguchi, K., Asia, I. and Ikeda, Y. 1948. kojic acid fermentation. J. Agric. Chem. Soc. Japan. 19 (1943): 711 - 713. Chem. Abst. 42: 55080.
- Sakai, I., Satoh, K., Tanaka, T., Morita, Y., Hibi, T., Tanabe, Y., Osawa, S. and Tomiita, Y. 1995. Whitening Embellisher. US Patent, 5427775.
- Solomons, G. 1996. Structure of Carbohydrate. Solomons. New York: John Wiley and Sons. pp. 1052 - 1056.
- Takahashi, T. and Asia, T. 1933. The production of fructose and kojic acid from mannitol by acetic acid bacteria: II. Effects of pH of the culture solution and the addition of calcium carbonate. J. Agric. Chem. Soc. Japan. 9 (1933): 369 - 374. Chem. Abst. 27: 3735.
- Tamiya, I. H. 1928. Growth of molds on cobaltamine salts. Acta. Phytochim. 3 (1927): 51 - 67. Chem. Abst. 22: 1990.
- Tamiya, I. H. and Hida, T. 1930. Comparative studies on acid formation, respiration, oxidase reaction and hydrogenation power of some *Aspergillus* species. Acta. Phytochim. (Japan). 4 (1929): 343 - 361. Chem. Abst. 24: 2496.
- Tanaka, I., Takeuchi, M. and Ichishima, E. 1989. Inhibition study of tyrosinase from *Aspergillus oryzae*. Agric. Biol. Chem. 53 (2) 557 - 558.
- Teramoto, S., Inomoto, Y. and Yamamoto, A. 1953. Antibiotic action of kojic acid on hiochi bacteria in sake. J. Ferment. Tech 28 (1950): 253 - 258. Biochem. Abst 47: 10799.
- Waskisaka, Y., Segawa, T., Imamura, K., Sakiyama, T. and Nakanishi, K. 1998. Development of a cylindrical apparatus for membrane - surface liquid culture and production of kojic acid using *Aspergillus oryzae* NRRL 484. J. Ferment. Bioeng. 85 (5): 488 - 494.
- Wei, C. I., Huang, T. S., Chen, J. S. Marshall, M. R. and Chung, K. T. 1991. Production of kojic acid by *Aspergillus candidus* in three culture media. J. Food. Protect. 54: 546 - 548.
- Wiley, W., Tyson, G. N. and Steller, J. S. 1942. The configuration of complex kojate formed with some transition elements as determined by magnetic susceptibility measurements. Chem. Rev. 64: 963 - 964.
- Woodhead, S. and Walker, J. R. L. 1975. The effects of aeration on glucose catabolism in *Penicillium expansum*. J. Gen.Microbiol. 89: 327 - 336.
- Yabuta, T. 1913. Kojic acid, a new organic acid formed by *Aspergillus oryzae*. Imp. Univ. Tokyo. Orig. Com. Intern. Congr. Appl. Chem. (Appendix). 25 (1912): 455 - 462. Chem. Abst. 7: 2191 - 2192.

Yabuta, T. 1923. A new organic acid (kojic acid) formed by *Aspergillus oryzae*. J. Chem. Soc. Japan. 37 (1916): 1185 - 1269. Chem. Abst. 17: 1475 - 1476.

Yabuta, T. 1924. The constitution of kojic acid, a γ - pyrone derivative formed by *Aspergillus oryzae* from carbohydrate. J. Chem. Soc. Japan. 37 (1916): 1185 - 1269. Chem. Abst. 17: 1475 - 1476.

Yamamoto, S. 1991. External preparations. US Patent, 4990532.

Yang, C. M., Hong, J. Y., Lee, K. W. and Chang, D. I. 1996. Kojic acid derivatives. US patent, 5523421.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารแข็งโพเทโทเดกซ์โทรส

ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร ประกอบด้วย

มันฝรั่ง	200	กรัม
น้ำตาลเดกซ์โทรส	20	กรัม
วุ้นผง	20	กรัม

ต้มมันฝรั่งในน้ำนาน 10 นาที ใช้ผ้าขาวบางกรองเฉพาะน้ำใส ใส่เดกซ์โทรสและวุ้นผงต้มให้ละลาย นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 - 20 นาที (นึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน)

2. อาหารเตรียมหัวเชื้อ

ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

น้ำตาลกลูโคส	10	กรัม
สารสกัดจากยีสต์	1	กรัม

เติมน้ำปลอดประจุจนครบ 1 ลิตร และนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตภัณฑ์โคจิก (กนิษฐา ภูวนารอนรานูบาล, 2542)

อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 102 : 1.75

ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร ประกอบด้วย

น้ำตาลกลูโคส	100	กรัม
แอมโมเนียมไนเตรต	1.814	กรัม
สารสกัดจากยีสต์	0.5	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.5	กรัม
โปแตสเซียมคลอไรด์	0.1	กรัม
กรดฟอสฟอริก	0.054	มิลลิลิตร

เติมน้ำปลอดประจุจนครบ 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4.5 และนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

ภาคผนวก ข

วิธีเตรียมสารเคมีที่สำคัญที่ใช้ในการทดลอง

1. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณกรดโคจิก

เฟอร์ริกคลอไรด์	1	กรัม
กรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอล	100	มิลลิลิตร
ละลายส่วนผสมต่างๆ ให้เข้ากัน และต้มจนกว่าจะละลายหมด		

2. สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

กรดไดโนโตรซาลิไซลิก	5	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์	100	มิลลิลิตร
โซเดียม - โปแตสเซียม คาร์เตต	150	กรัม

ละลายกรดไดโนโตรซาลิไซลิกในโซเดียมไฮดรอกไซด์ผสมกับโซเดียม - โปแตสเซียม คาร์เตต ที่ละลายในน้ำปอดประจุ 250 มิลลิลิตร ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันโดยปรับปริมาตรด้วยน้ำปอดประจุให้เป็น 500 มิลลิลิตร

3. สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์ไนโตรเจน

3.1 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 37 เปอร์เซ็นต์

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 370 กรัมในน้ำปอดประจุแล้วเติมน้ำให้มีปริมาตร 1 ลิตร

3.2 สารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์

ละลายกรดบอริก 40 กรัมในน้ำปอดประจุแล้วเติมน้ำให้มีปริมาตร 1 ลิตร

3.3 ตัวบ่งชี้ (indicator) ผสม

ละลายเมทิลเรด 0.1 กรัม และเมธิลียบลู 0.1 กรัม ในเอทานอลเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 150 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา

4. สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรต

4.1 สารละลายโซเดียมคลอไรด์

ละลายโซเดียมคลอไรด์ 300 กรัมในน้ำปอดประจุแล้วเติมปริมาตรจนครบ 1 ลิตร

4.2 สารละลายกรดซัลฟูริก

เทกรดซัลฟูริกเข้มข้น 500 มิลลิลิตรลงในน้ำปลดคประจุปริมาณ 125 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชาปิดฝาให้แน่น

4.3 สารละลายบรูซึน - กรดซัลฟานิลิก

ละลายบรูซึนซัลเฟต 1 กรัม และกรดซัลฟานิลิก 0.1 กรัม ในน้ำปลดคประจुरू้อน ปริมาตร 70 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน แล้วเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำปลดคประจูนมีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

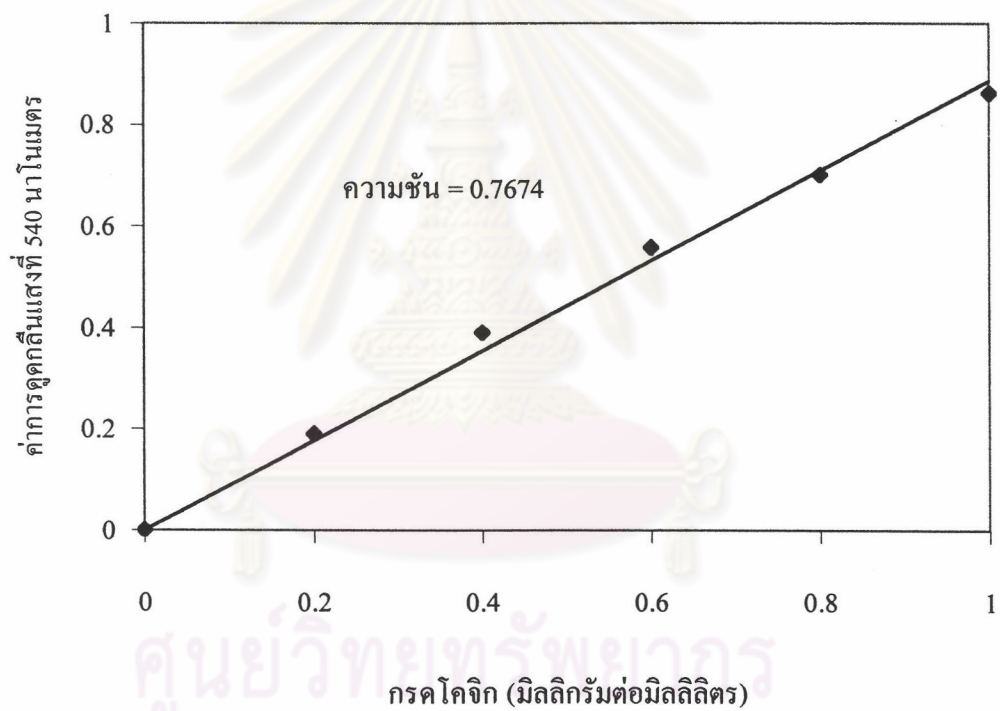


ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

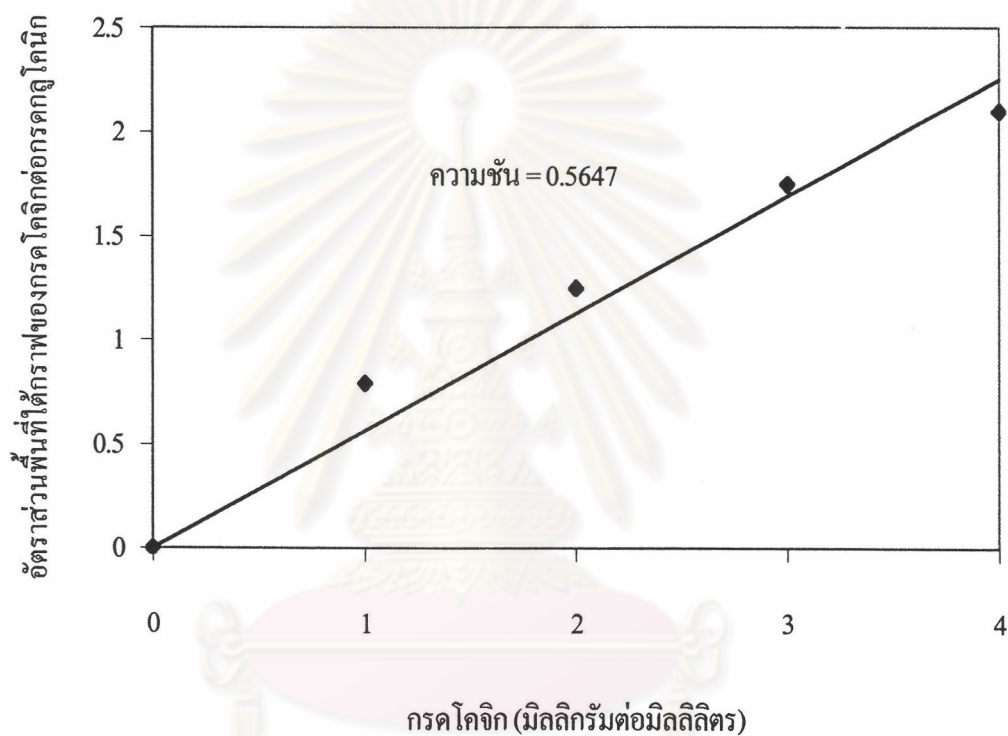
กราฟมาตรฐาน

1. กราฟมาตรฐานของกรดโคจิก เมื่อวิเคราะห์ปริมาณของกรดโคจิกโดยวิธี Bentley (1957)



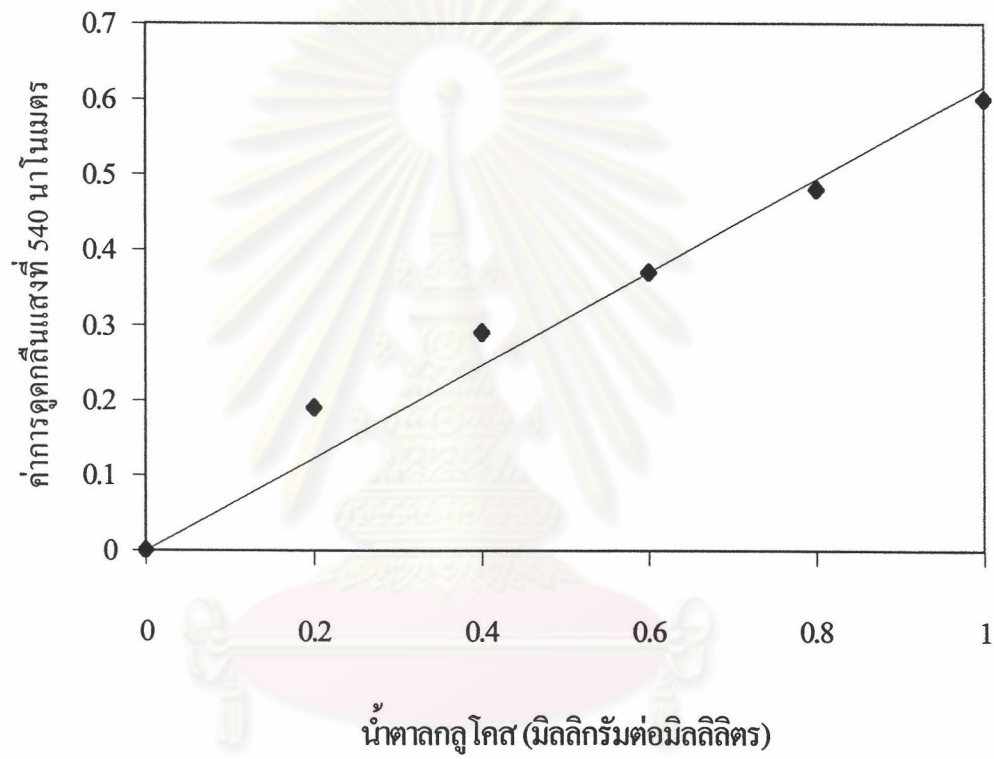
ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. กราฟมาตรฐานของกรดโคจิก เมื่อวิเคราะห์ปริมาณของกรดโคจิกโดยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)



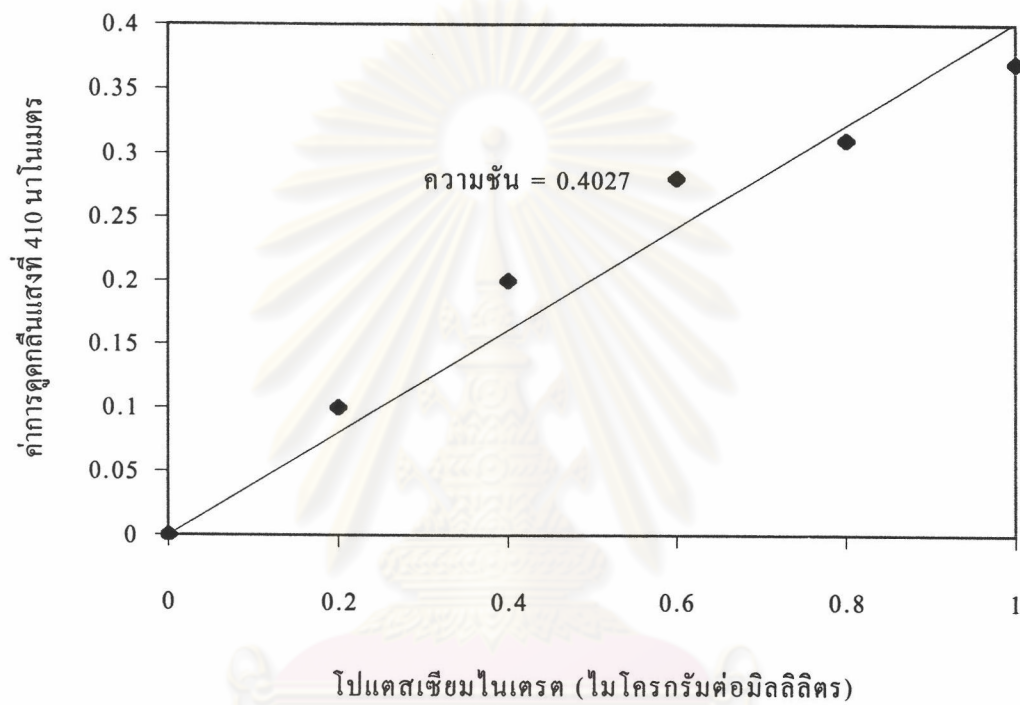
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. กราฟมาตรฐานของน้ำตาลรีดิวซ์ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีของ Bernfeld (1955)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. กราฟมาตรฐานของไนเตรตไนโตรเจน เมื่อวิเคราะห์โดยวิธีของ Jenkins และ Medskr (1964)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง

วิธีการคำนวณหาปริมาณกรดโคจิก และปริมาณของแหล่งไนโตรเจน

1. การคำนวณหาปริมาณกรดโคจิกในตัวอย่างน้ำหมัก เมื่อวิเคราะห์โดยวิธี โครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

จากกราฟมาตรฐานของกรดโคจิก เมื่อวิเคราะห์ปริมาณของกรดโคจิกโดยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งมีกรดกลูโคนิกเป็นสารมาตรฐานภายใน (ภาคผนวก ค2) ให้ค่าความชันเท่ากับ 0.56 นำค่าความชันที่ได้มาคำนวณหาปริมาณกรดโคจิกของตัวอย่างน้ำหมักที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 จากสูตร

ปริมาณกรดโคจิก

$$= \frac{\text{อัตราส่วนพื้นที่ได้กราฟของกรดโคจิกในน้ำหมักต่อกรดโคจิกในน้ำหมักต่อกรดกลูโคนิกมาตรฐาน} \times \text{ค่าการเจือจาง}}{\text{ค่าความชัน}}$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

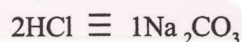
2. การคำนวณปริมาณของอินทรีย์ไนโตรเจน เมื่อวิเคราะห์โดยวิธีของ Steyermark (1951)

เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนทั้งหมด

$$= \frac{\text{ปริมาณกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน } 0.05 \text{ นอร์มอล} \times \text{ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน (M)} \times 1.4}{\text{ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}}$$

วิธีการหาความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน

ชั่งโซเดียมไบคาร์บอเนต 0.2 กรัม ละลายในน้ำปลอดประจุ 70 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน หยอดตัวบ่งชี้ซึ่งมีส่วนผสมของเมทิลเรดและเมธีลีนบลู (ภาคผนวก ข3.3) 3 หยด นำไปต้มในน้ำเดือด 3 นาที แล้วนำมาไตเตรตขณะร้อนกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.05 นอร์มอลที่เตรียมไว้ จนสารละลายสีเขี้ยวอ่อนเปลี่ยนเป็นสีชมพู บันทึกปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกนำมาคำนวณในสมการ ดังนี้



$$\text{ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน} = \frac{1 \times \text{กรัมของโซเดียมไบคาร์บอเนต} \times 1000}{2 \text{ มิลลิลิตรของไฮโดรคลอริก} \times 36.5}$$

ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. การคำนวณปริมาณไนเตรตในตัวอย่างน้ำหมัก เมื่อวิเคราะห์โดยวิธีของ Jenkins และ Medsker (1964)

จากกราฟมาตรฐานของไนเตรตไนโตรเจน เมื่อวิเคราะห์โดยวิธี Brucine sulphate โดยมีโปแตสเซียมไนเตรตเป็นสารมาตรฐานซึ่งให้ค่าความชันเท่ากับ 0.425 นำค่าความชันที่ได้มาคำนวณหาปริมาณไนเตรตของตัวอย่างน้ำหมักที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *A. oryzae* K13 จากสูตร

$$\text{ปริมาณไนเตรต (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)} = \frac{\text{OD} \times \text{ค่าการเจือจาง}}{\text{ค่าความชันของกราฟมาตรฐานโปแตสเซียมไนเตรต}}$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางสาวชมจิต ท้าวธงไชย เกิดเมื่อวันที่ 1 มีนาคม พ.ศ. 2520 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาจากโรงเรียนพนมสารคาม “พนมอดุลวิทยา” จังหวัดฉะเชิงเทรา เมื่อปี พ.ศ. 2537 ต่อมาสำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อปี พ.ศ. 2540 และเข้าศึกษาในหลักสูตรวิทยาศาสตร สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2541



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย