

การเพาะเลี้ยง *Aspergillus oryzae* K13 บนผิวหน้าอาหารเหลวเพื่อการผลิตกรดโคจิก

นางสาว กนิษฐา ภูวนาจนราษุบาล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2542

ISBN 974-333-488-2

ลิขสิทธิ์ของ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**LIQUID SURFACE CULTURE OF *Aspergillus oryzae* K13
FOR KOJIC ACID PRODUCTION**

Miss Kanitta Phuwanatnaranuban

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Industrial Microbiology
Department of Microbiology Faculty of Science**

Chulalongkorn University

Academic Year 1999

ISBN 974-333-488-2

กนิษฐา ภูวนาถนรานูบาล : การเพาะเลี้ยง *Aspergillus oryzae* K13 บนผิวหน้าอาหาร
เหลวเพื่อการผลิตกรดโคจิก (LIQUID SURFACE CULTURE OF
Aspergillus oryzae K13 FOR KOJIC ACID PRODUCTION) อ. ที่ปรึกษา :
รศ. กรรณิกา จันทรสอาด, 179 หน้า. ISBN 974-333-488-2

การผลิตกรดโคจิกโดยการเพาะเลี้ยง *Aspergillus oryzae* K13 ให้เจริญบนผิวหน้า
อาหารเหลวเป็นวิธีที่น่าสนใจเนื่องจากมีค่าดำเนินการผลิตต่ำและไม่ต้องใช้เทคโนโลยีสูง งานวิจัยนี้
ได้ทำการปรับปรุงอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเพิ่มผลผลิตกรดโคจิก ผลการทดลองพบว่าสูตรอาหารที่
ปรับปรุงแล้วซึ่งประกอบด้วย น้ำตาลกลูโคส 100 กรัมต่อลิตร สารสกัดจากยีสต์ 0.5 กรัมต่อลิตร
แอมโมเนียมไนเตรต 1.814 กรัมต่อลิตร แมกนีเซียมซัลเฟต 0.5 กรัมต่อลิตร โปแตสเซียมคลอไรด์
0.1 กรัมต่อลิตร และกรดฟอสฟอริก 0.054 มิลลิลิตรต่อลิตร ซึ่งมีค่าอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อ
ไนโตรเจนเท่ากับ 102 : 1.75 ให้ผลผลิตกรดโคจิก 23.26 กรัมต่อลิตร ภายใน 16 วัน ซึ่งสูงกว่า
อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเดิม 15.30 เท่า และเมื่อทำการผลิตภายใต้ภาวะเหมาะสมคือ อัตราส่วนระหว่าง
พื้นที่ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อความสูงเท่ากับ 57 : 1.0 ขนาดของหัวเชื้อเท่ากับ 2 เปอร์เซ็นต์
(ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ) อัตราการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลวมีค่า
เท่ากับ 176 ลิตรต่อนาทีต่อตารางเมตร สามารถเพิ่มผลผลิตขึ้นเป็น 30.35 กรัมต่อลิตร
โดยลดระยะเวลาในการผลิตลงได้ 7 วัน

ภาควิชา จุลชีววิทยา.....
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม.....
ปีการศึกษา 2542.....

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

3970012723: MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD: LIQUID SURFACE / *Aspergillus oryzae* K13 / KOJIC ACID

KANITTA PHUWANATNARANUBAN: LIQUID SURFACE CULTURE OF
Aspergillus oryzae K13 FOR KOJIC ACID, THESIS ADVISOR: ASSO. PROF.
KANNIKA CHUNTARASA-ARD, 179 pp. ISBN. 974-333-488-2

Kojic acid production by liquid surface culture of *Aspergillus oryzae* K13 is the promising and appropriate technology due to its low production cost. The suitable medium compositions were studied to increase the product yield. The results showed that by using the improved cultivation medium containing 100 g/l glucose, 0.5 g/l yeast extract, 1.814 g/l ammonium nitrate, 0.5 g/l magnesium sulphate, 0.1 g/l potassium chloride and 0.054 ml/l phosphoric acid (C:N = 102 : 1.75), 23.26 grams of kojic acid per one liter of medium was produced within 16 days which was 15.30 times higher than that of the original medium. The production under some suitable conditions which were 57 : 1.0 surface area : height of medium, 2 % (v/v) of inoculum size and 176 l/min/m² air flow rate could increase the yield up to 30.35 g/l and also reduce 7 days cultivation time.

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต กนิษฐา จงพจนานานน
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา กนิษฐา จงพ
ปีการศึกษา 2542 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก รองศาสตราจารย์ วรรณิกา จันทรสอาด อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาเป็นที่ปรึกษาให้คำแนะนำ และแนวทางในการทำงานวิจัย ตลอดจนช่วยตรวจแก้ไขและสนับสนุนในด้านต่างๆจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ จึงขอกราบขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณประธานกรรมการ และคณะกรรมการทุกท่าน ที่กรุณาตรวจสอบ และแก้ไขต้นฉบับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้อง และสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) และบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ทุนอุดหนุนงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ คุณสุนันท์ รังษีกาญจน์ ที่ช่วยให้คำแนะนำและช่วยวิเคราะห์กรดโคจิก ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

ขอขอบพระคุณ คุณศุภศิลาปี ดาราสุรย์ ที่ช่วยตัดและเชื่อมแก้วในการทำภาชนะสำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยงและอุปกรณ์ในการเป่าระบายนอากาศ

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่อบรมสั่งสอนมา รวมทั้งเจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ และอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยนี้

ความดีของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มอบแด่คุณพ่อ และคุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนทั้งทางด้านกำลังใจ และกำลังทรัพย์ ตลอดจนบุคคลอันเป็นที่รักที่ให้ความช่วยเหลือ และให้กำลังใจเป็นอย่างดีตลอดมา จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ญ
สัญลักษณ์และคำย่อ	ด
บทที่	
1. บทนำ	1
2. อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย	34
3. ผลการวิจัย	52
4. สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย	141
รายการอ้างอิง	155
ภาคผนวก	164
ภาคผนวก ก สูตรอาหารและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	165
ภาคผนวก ข วิธีเตรียมสารเคมีที่สำคัญที่ใช้ในการทดลอง	170
ภาคผนวก ค กราฟมาตรฐาน	172
ภาคผนวก ง วิธีการคำนวณหาปริมาณกรดโคจิก และปริมาณไนโตรเจน	177
ประวัติผู้เขียน	179

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดโคจิก	7
2. ตัวอย่างสัทธิบัติที่เกี่ยวกับกรดโคจิกและอนุพันธ์ของกรด	25
3. แหล่งคาร์บอนที่จุลินทรีย์สามารถใช้เพื่อผลิตกรดโคจิก	27
4. แหล่งไนโตรเจนที่จุลินทรีย์สามารถใช้เพื่อผลิตกรดโคจิก	29
5. สรูปองค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรดโคจิกแต่ละสูตร ...	44
6. การแปรอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่าง ๆ กัน	45
7. การแปรปริมาณน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหมาะสมสำหรับการ ผลิตกรดโคจิก โดยคงค่าอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 102 : 1.75	46
8. การแปรอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อความสูงของอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ กัน ...	47
9. อัตราการผลิตกรดโคจิกเฉลี่ย ร้อยละของการใช้น้ำตาล และร้อยละของการ ผลิตกรดโคจิก คัดจากปริมาณคาร์บอนที่ใช้ ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการ ผลิตกรดโคจิกสูตรที่ 3 5 6 7 และ 8	73
10. อัตราการผลิตกรดโคจิกเฉลี่ย ร้อยละของการใช้น้ำตาล และร้อยละของการ ผลิตกรดโคจิก คัดจากปริมาณคาร์บอนที่ใช้ ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิต กรดโคจิกสูตรที่ 5 และ 9	77
11. ประสิทธิภาพในการผลิตกรดโคจิกจากการแปรอัตราส่วนระหว่างคาร์บอน ต่อไนโตรเจนต่าง ๆ กัน	94
12. ประสิทธิภาพในการผลิตกรดโคจิก จากการแปรปริมาณน้ำตาลกลูโคส	104
13. ประสิทธิภาพในการผลิตกรดโคจิก ณ วันที่ให้ผลผลิตสูงสุด เมื่อแปร อัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อความสูงของอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ กัน	114
14. เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิก ณ วันที่ให้ผลผลิตสูงสุด เพื่อศึกษาผลกระทบ ของความเข้มข้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ และความหนาแน่นของหัวเชื้อ	116
15. ปริมาณกรดโคจิก และน้ำหนักสายใยแห้ง ณ วันที่ให้ผลผลิตกรดโคจิกสูงสุด เมื่อใช้ขนาดของหัวเชื้อต่าง ๆ กัน	124

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
16. ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่วัดได้ในระหว่างการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลว เมื่อมีการเป่าให้อากาศ และไม่มี การเป่าให้อากาศ	130

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1. โครงสร้างทางเคมีของกรด โคจิก	1
2ก. วิธีการสังเคราะห์ค่าที่คอลลอยด์ในพืช และยูเมลานินในสัตว์	5
2ข. เปรียบเทียบลักษณะ โครงสร้างทางเคมีของกรดโคจิก และไรโรจีน	6
3. ลักษณะโมเลกุลของลิโปโซม	6
4. การสังเคราะห์กรด โคจิกจากสารประกอบที่มีคาร์บอน 3 อะตอม	9
5. การสังเคราะห์กรด โคจิกจาก ดี-ฟรักโทส	10
6. การสังเคราะห์กรด โคจิกจาก 1-ไฮดรอกซีอะซีทิล-3-ฟอร์มิล-3-ไดไฮดรอกซีอะซีโตน.....	10
7. การสังเคราะห์กรด โคจิกจากน้ำตาลกลูโคส	11
8. การสังเคราะห์กรด โคจิกจากน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม	12
9. ภาพแกะรูปทรงกระบอกที่ใช้เพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 เพื่อผลิตกรดโคจิก	37
10. (ก) ชุดอุปกรณ์สำหรับการทดลองที่มีการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ (ข) ภาพถ่ายแสดงตำแหน่งของการเป่าให้อากาศเหนือผิวหน้าอาหารเหลว 2 เซนติเมตร	49
11. เครื่องวัดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ชนิดเคลื่อนย้ายได้	51
12. การเติบโตของราในระหว่างการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อสปอร์แขวนลอยในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ	53
13. ปริมาณกรด โคจิกในระหว่างการผลิตโดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรดโคจิกในชุด ก	56
14. การใช้น้ำตาลในระหว่างการผลิตโดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรดโคจิกในชุด ก	57
15. เปรียบเทียบปริมาณกรด โคจิก ณ วันที่ให้ผลผลิตกรดสูงสุด และน้ำหนักสายใยแห้ง ณ วันสิ้นสุดการทดลอง เมื่อเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวชุด ก	59

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
16. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 1 ..	60
17. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 2 ..	61
18. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 3 ..	62
19. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 4 ..	63
20. เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิก จากการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีองค์ประกอบอื่นๆเหมือนกันแต่ต่างกันที่ชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอน	66
21. เปรียบเทียบการใช้น้ำตาล จากการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีองค์ประกอบอื่นๆเหมือนกันแต่ต่างกันที่ชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอน.....	67
22. เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิก ณ วันที่ให้ผลผลิตสูงสุด และน้ำหนักสายใยแห้ง ณ วันสิ้นสุดการทดลอง จากการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 5 6 7 และ 8 ซึ่งมีองค์ประกอบอื่นๆเหมือนกันแต่ต่างกันที่ชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอน	68
23. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 5 ..	69
24. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 6 ...	70
25. ภาพถ่ายจากแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 7	71

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
26. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 8 ..	72
27. ปริมาณกรด โคจิก และน้ำตาลรีดิวซ์ระหว่างการผลิตโดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิก สูตรที่ 5 และ 9 ..	76
28. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 9 ..	78
29. ปริมาณกรด โคจิก การใช้น้ำตาล ค่าความเป็นกรดค้าง และน้ำหนักสายใยแห้ง ในระหว่างการผลิตโดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 5 ที่มีอัตราส่วนระหว่างการบ่มต่อในโตรเจนเท่ากับ 102 : 1.0 ..	82
30. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 5 ที่มีอัตราส่วนระหว่างการบ่มต่อในโตรเจนเท่ากับ 102 : 1.0 ..	83
31. ปริมาณกรด โคจิก การใช้น้ำตาล ค่าความเป็นกรดค้าง และน้ำหนักสายใยแห้ง ในระหว่างการผลิตโดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 5 ที่มีอัตราส่วนระหว่างการบ่มต่อในโตรเจนเท่ากับ 102 : 1.25 ..	84
32. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 5 ที่มีอัตราส่วนระหว่างการบ่มต่อในโตรเจนเท่ากับ 102 : 1.25 ..	85
33. ปริมาณกรด โคจิก การใช้น้ำตาล ค่าความเป็นกรดค้าง และน้ำหนักสายใยแห้ง ในระหว่างการผลิตโดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 5 ที่มีอัตราส่วนระหว่างการบ่มต่อในโตรเจนเท่ากับ 102 : 1.5 ..	86

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
34. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 5 ที่มีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 102 : 1.5	87
35. ปริมาณกรด โคจิก การใช้น้ำตาล ค่าความเป็นกรดค้าง และน้ำหนักสายใยแห้ง ในระหว่างการผลิตโดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 5 ที่มีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 102 : 1.75	88
36. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 5 ที่มีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 102 : 1.75	89
37. ปริมาณกรด โคจิก การใช้น้ำตาล ค่าความเป็นกรดค้าง และน้ำหนักสายใยแห้ง ในระหว่างการผลิตโดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 5 ที่มีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 102 : 2.0	90
38. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรด โคจิกสูตรที่ 5 ที่มีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจน เท่ากับ 102 : 2.0	91
39. เปรียบเทียบปริมาณกรด โคจิก และน้ำหนักสายใยแห้งในระหว่างการผลิตกรด โคจิก จากการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลวที่แปรอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจน	92
40. เปรียบเทียบปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และน้ำหนักสายใยแห้ง ในระหว่างการผลิตกรด โคจิก โดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลวที่แปรอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่างกัน	93

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
41. นำหนักสายใยแห้ง การใช้น้ำตาล ปริมาณกรด โคจิก และค่าความเป็นกรดต่าง ในระหว่างการผลิตจากการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลว ที่มีน้ำตาลกลูโคสในปริมาณ 75 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน	97
42. นำหนักสายใยแห้ง การใช้น้ำตาล ปริมาณกรด โคจิก และค่าความเป็นกรดต่าง ในระหว่างการผลิตจากการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลว ที่มีน้ำตาลกลูโคสในปริมาณ 100 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน	98
43. นำหนักสายใยแห้ง การใช้น้ำตาล ปริมาณกรด โคจิก และค่าความเป็นกรดต่าง ในระหว่างการผลิตจากการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลว ที่มีน้ำตาลกลูโคสในปริมาณ 125 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน	99
44. นำหนักสายใยแห้ง การใช้น้ำตาล ปริมาณกรด โคจิก และค่าความเป็นกรดต่าง ในระหว่างการผลิตจากการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลว ที่มีน้ำตาลกลูโคสในปริมาณ 150 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน	100
45. นำหนักสายใยแห้ง การใช้น้ำตาล ปริมาณกรด โคจิก และค่าความเป็นกรดต่าง ในระหว่างการผลิตจากการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลว ที่มีน้ำตาลกลูโคสในปริมาณ 175 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน	101
46. นำหนักสายใยแห้ง การใช้น้ำตาล ปริมาณกรด โคจิก และค่าความเป็นกรดต่าง ในระหว่างการผลิตจากการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลว ที่มีน้ำตาลกลูโคสในปริมาณ 200 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน	102
47. เปรียบเทียบปริมาณกรด โคจิกที่ผลิตขึ้นในระหว่างการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลวที่มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ	103
48. ปริมาณกรด โคจิกในระหว่างการผลิต จากการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญ บนผิวหนังอาหารเหลว โดยแปรอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อความสูงต่างๆ	106

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
49. การเติบโตและการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดค้างระหว่างการผลิตกรดโคจิก จากการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลว โดยแปรอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อความสูงต่างๆ	107
50. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลว โดยทำการเพาะเลี้ยงที่อัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อความสูงเท่ากับ 57 : 1.0	108
51. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลว โดยทำการเพาะเลี้ยงที่อัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อความสูงเท่ากับ 57 : 2.0	109
52. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลว โดยทำการเพาะเลี้ยงที่อัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อความสูงเท่ากับ 57 : 3.0	110
53. ภาพถ่ายแสดงลักษณะการเติบโตและปริมาณของสายใย <i>A. oryzae</i> K13 ที่เพาะเลี้ยงให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลว โดยทำการเพาะเลี้ยงที่อัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อความสูงเท่ากับ 57 : 4.0	111
54. ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ในระหว่างการผลิตกรดโคจิก จากการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลว โดยแปรอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อความสูงต่างๆ	113
55. ปริมาณกรดโคจิกในระหว่างการผลิตกรดโคจิก โดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลวเมื่อแปรขนาดของหัวเชื้อต่างๆกัน	119
56. ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ในระหว่างการผลิตกรดโคจิก โดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลวเมื่อแปรขนาดของหัวเชื้อต่างๆกัน	120
57. น้ำหนักสายใยแห้งในระหว่างการผลิตกรดโคจิก โดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลวเมื่อแปรขนาดของหัวเชื้อต่างๆกัน	121

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
58. ค่าความเป็นกรดค่า่างในระหว่างการผลิตกรดโคจิก โดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลวเมื่อแปรขนาดของหัวเชื้อต่างๆ กัน	122
59. ปริมาณกรดโคจิก น้ำหนักสายใยแห้ง การใช้น้ำตาล และค่าความเป็นกรดค่า่างในระหว่างการผลิตกรดโคจิก โดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลว ที่มีขนาดหัวเชื้อเท่ากับ 2 เพลอร์เซ็นต์	123
60. การเติบโต และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์บริเวณเหนือผิวหนังอาหารเหลว 1 เซนติเมตร จากการทดลองที่ไม่มีการเป่าให้อากาศ เป่าให้อากาศ 5 วันนับตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยง และเป่าให้อากาศตลอดการทดลอง	129
61. กรดโคจิก และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์บริเวณเหนือผิวหนังอาหารเหลว 1 เซนติเมตร จากการทดลองที่ไม่มีการเป่าให้อากาศ เป่าให้อากาศ 5 วันนับตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยง และเป่าให้อากาศตลอดการทดลอง	131
62. ปริมาณกรดโคจิก และน้ำตาลรีดิวส์ ในระหว่างการผลิตโดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลวที่ไม่มีการเป่าให้อากาศ เป่าให้อากาศ 5 วันนับตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยง และเป่าให้อากาศตลอดการทดลอง	132
63. เปรียบเทียบค่าความเป็นกรดค่า่างและการเติบโตในระหว่างการผลิตกรดโคจิก โดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลวที่ไม่มีการเป่าระบายอากาศ เป่าให้อากาศ 5 วันนับตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยง และเป่าระบายอากาศตลอดการทดลอง	133
64. เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกจากการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลว ภายใต้สูตรอาหารและภาวะการเพาะเลี้ยงก่อนและหลังจัดให้เหมาะสม	137
65. เปรียบเทียบปริมาณกรดโคจิกภายใต้สูตรอาหารและภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโคจิกโดยการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหนังอาหารเหลวและในอาหารเหลวระดับขวดเขย่า	138

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
66. โครมาโตแกรมของกรดโคจิกมาตรฐานและกรดอินทรีย์ที่ผลิตขึ้นจากการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลว เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟี แบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ Zorbax C-8	139
67. โครมาโตแกรมของกรดโคจิกมาตรฐานและกรดอินทรีย์ที่ผลิตขึ้นจากการเพาะเลี้ยง <i>A. oryzae</i> K13 ให้เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลว เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟี แบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ Spherisorb C-18.....	140

สัญลักษณ์และคำย่อ

g = กรัม

l = ลิตร

d = วัน

Y_{p^s} = ผลผลิตกรด โคจิกค่อน้ำตาลกลูโคสที่ถูกนำไปใช้

Y_{p^x} = ผลผลิตกรด โคจิกค่อน้ำหนักสายใยแห้ง

ppm = ส่วนในบรยากาศล้าน