รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

เสาวนีย์ ศิริรูป . 2539. การแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ผลิตโอลิโกแซคคาไรด์จากน้ำตาลซูโครส. โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มาริสา กรแก้ว. 2543. ผลกระทบของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์โดย *Penicillium* sp.H12. โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Adachi, T. and Hidaka, H. 1987. Sweetener. U.S. Patent .4,681,771.

Albon, N., Bell, D.J., Blanchard, P.H., Gross, D. and Rundell, J.T. 1953. Kestose : a trisaccharide formed from sucrose by yeast invertase. J.Chem.Soc. 24 - 27.

Bacon, J.S.D. and Edelman, J. 1950. The action of invertase preparations. Arch. Biochem. 28 : 467 - 468.

Bacon, J.S.D. and Edelman, J. 1951. The carbohydrates of the Jerusalem artichoke and other compositae. Biochem.J. 48 : 114 - 126.

Bacon, J.S.D. 1959. The trisaccharide fraction of some monocotyledons. Biochem.J. 73 : 507 - 514.

Balken, J.A.M., Dooren, J.G.M., Tweel, W.J.J., Kamphuis, J. and Meijer, E.M. 1991. Production of 1-kestose with intact mycelium of *Aspergillus phoenicis* containing sucrose-1^F-fructosyltransferase. Appl. Microbiol. Biotechnol. 35 : 216 - 221.

Barthomeuf, C. and Pourrat, H. 1995. Production of high - content fructooligosaccharides by an enzymatic system from *Penicillium rugulosum*. Biotechnol. Lett. 17(9) : 911 – 916.

Barthomeuf, C. , Grizard, D. and Teulade, J. C. 1997. Assay and structural determination of fructooligosaccharides synthesized by an enzymatic system from *Penicillium rugulosum*. Biotechnol. Tech. 11 (11) : 845 – 848.

Bornet ,F.R. 1994. Undigestible sugars in food products. Am.J.Clin.Nutr. 59 :733- 769.

Briet, F., Achour, L., Flourie, B., Beaugerie, L., Pellier, P., Franchisseur, C., Bornet, F. and Rambaud, J.C. 1995. Symptomatic response to varying levels of fructooligosaccharides consumed occasionally or regularly. Eur.J.Clin Nutr. 49 : 501 - 507.

Buddington, R.K., Williams, C.H., Chen, S. and Witherly, S.A. 1996. Dietary supplement of neosugar alters the fecal flora and decreases activities of some reductive enzymes in human subjects. Am.J.Clin.Nutr. 63 : 709 - 716.

Cairns, A. J. 1995. Effects of enzyme concentration on oligofructan synthesis from sucrose. Phytochem. 40 (3) : 705 – 708.

Campbell, J.M. , Fahey, G.C. and Wolf, B.W. 1997. Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass , cecal and fecal short chain fatty acids ,pH and microflora in rats. J. Nutr. 127 :130 - 136.

Carlsson, N., Karlsson, H. and Sandberg, A. 1992. Determination of oligosaccharides in foods , diets , and intestinal contents by high-temperature gas chromato graphy and gas chromatography / mass spectrometry. J.Agric.Food Chem. 40 : 2404 - 2412.

Chang, C. T. , Lin, Y. Y. , Tang, M. S. and Lin, C. F. 1994. Purification and properties of β - fructofuranosidase from *Aspergillus oryzae* ATCC 76080. Biochem. Mol. Biol. Inter. 32 (2) : 269 - 277 .

Chen, W. C. 1995. Production of β - fructofuranosidase by *Aspergillius japonicus* in batch and fed-batch cultures. Biotechnol. Lett. 17 (12) : 1291 – 1294.

Chen, W. C. and Liu, C. H. 1996. Production of β - fructofuranosidase by *Aspergillus japonicus*. Enz. Microb . Technol. 18 : 153 - 160.

Cheng, C.U., Duan, K.J., Sheu, D.C., Lin, C.T. and Li, S.Y. 1996. Production of fructooligosaccharides by immobilized mycelium of *Aspergillus japonicus*. J.Chem.Tech.Biotechnol. 66 :135 - 138.

Dohnalek, M.I.H., Ostrom, K.M., Hilty, M.D. 1998. Use of indigestible oligosaccharides to prevent gastrointestinal infections and reduce duration of diarrhea in humans. U.S. Patent. 5,827,526.

Duan, K. J. , Chen, J. S. and Sheu, D. C. 1994 . Kinetic studies and mathematical model for enzymatic production of fructooligosaccharides from sucrose. Enz. Microb. Technol. 16 : 334 - 339 .

Edelman, J. and Dickerson, A.G. 1966. The metabolism of fructose polymers in plants : transfructosylation in tubers of *Helianthus tuberosus* L. Biochem.J. 98 : 787 - 794.

Edelman, J. and Jefford, T.G. 1968. The mechanism of fructosan metabolism in higher plants as exemplified in *Helianthus tuberosus*. New Phytol. 67 : 517 - 531.

Fujita, K. , Hara, K. , Hashimoto, H. and Kitahara, S. 1990. Purification and some properties of β - fructofuranosidase from *Arthrobacter* sp. K1 . Agric. Biol. Chem. 54 (4) : 913 - 919.

Garleb, K.A. , Wolf, B.W. , Meulbroek, J.A. and Wheeler, K.B. 1997. Inhibition of *C. difficile* infections by indigestible oligosaccharides. U.S.Patent, 5,688,777.

Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of human colonic microbiota : Introducing the concept of prebiotics. J. Nutr. 125 :1401 - 1412.

Griffin, D.H. 1994. Chemical requirements of growth. Fungal Physiology. PP.130 – 157. New York : Wiley-Liss, Inc.

Gross, D., Blanchard, P.H. and Bell, D.J. 1954. Neokestose : a trisaccharide formed from sucrose by yeast invertase. J. Chem. Soc. 1727 - 1730.

Gupta, A. K. and Bhatia, I. S. 1980. Glucofructosan biosynthesis in *Fusarium oxysporum*. Phytochem. 19 : 2557 - 2563 .

Hang, Y.D., Woodams, E.E. and Jang, K.Y. 1995. Enzymatic conversion of sucrose to kestose by fungal extracellular fructosyltransferase. Biotechnol.Lett. 17 (3) : 295 - 298.

Hankin, L. and McIntyre, J.L. 1977. Production of kestoses (fructosylsucroses) by *Phytophthora parasitica* var.*nicotianae*. Appl.Environ.Microbiol. 33 :522 - 524.

Hayashi, S., Nonokuchi, M., Imada, K. and Ueno, H. 1990. Production of a fructosyl-transferring enzyme by *Aureobasidium* sp. ATCC 20524. J. Indus. Microbiol. 5 : 395 – 400.

Hayashi, S., Kinoshita, J., Nonoguchi, M., Takasaki, Y. and Imada, K. 1991. Continuous production of 1-kestose by β - fructofuranosidase immobilized on shirasu porcus glass. Biotechnol. Lett. 13(6) :395 - 398.

Hayashi, S., Tubouchi, M., Takasaki, Y. and Imada, K. 1994. Long - term continuous reaction of immobilized β - fructofuranosidase. Biotechnol.Lett. 16(3) :227-228.

Hidaka. H. , Hirayama, M. and Sumi, N. 1988. A fructooligosaccharide - producing enzyme from *Aspergillus niger* ATCC 20611. Agric. Biol. Chem. 52 (5) : 1181 - 1187 .

Hidaka, H. and Hirayama, M. 1991. Useful characteristics and commercial applications of fructooligosaccharides. Biochem.Soc.Trans. 19(3) : 561 - 565.

Hidano, T., Takeda, H., Tsukada, M., Yamamoto, K. and Inoue, A. 1995. Method of producing kestose crystals. U.S. Patent. 5,463,038.

Hirayama, M. , Sumi, N. , Hidaka, H. 1989 . Purification and properties of fructo oligosaccharide - producing β - fructofuranosidase from *Aspergillus niger* ATCC 20611 . Agric. Biol. Chem. 53(3) : 667 - 673 .

Jang, K.Y. and Hang, Y.D. 1996. Transfructosylating enzyme activity of *Penicillium roquefertii*. Lett. Appl. Microbiol. 22 : 397 - 399.

Jung, K.H., Lim, J.Y., Yoo, S.J., Lee, J. H. and Yoo, M. Y. 1987. Production of fructosyl-transferase from *Aureobasidium pullulan*. Biotechnol. Lett. 9(10) : 703 - 708.

Jung, K.H. , Yun, J.W. , Kang, K.R. , Lim, J.Y. and lee, J.H. 1989. Mathematical model for enzymatic production of fructooligosaccharides from sucrose. Enz. Microb. Technol. 11 : 491 - 494.

Jung, K.H. , Kim, J.H. , Jeon, Y.J. and Lee, J.H. 1993. Production of high fructo oligosaccharides syrup with two enzyme system of fructosyltransferase and glucose oxidase. Biotechnol. Lett. 15 (1) : 65 – 70.

Kawai, G., Taniguchi, H. and Nakamura, M. 1973. Polyfructan and Oligofructans synthesized from sucrose by conidia of *Aspergillus sydowi* IAM 2544. Agr.Biol.Chem. 37(9) : 2111 - 2119.

Kempers , A.J. , 1974. Determination of sub-microquantities of ammomium and nitrate in soil with phenol , sodium nitriprusside and hypochloride. Geoderma. 12 : 201 – 206

Kim, D.H., Choi, Y.J., Song, S.K. and Yun, J.W. 1997. Production of inulo-oligosaccharides using endo-inulinase from a *Pseudomonas* sp. Biotechnol. Lett. 19(4) : 369 - 371.

Kono, T., Yamaguchi, G., Hidaka, H. 1994. Fructose transferring enzyme absorbed on a granular carrier for production of fructooligosaccharides. U.S. Patent. 5,314,810.

Kurakake, M. , Onoue, T. and Komaki, T. 1996. Effect of pH on transfructosylation and hydrolysis by β - fructofuranosidase from *Aspergillus oryzae*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 45 : 236 - 239.

Loo, J.V., Coussement, P., Leenheer, L.D., Hoebregs, H. and Smits, G. 1995. On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 35(6) : 525 - 552.

Molis, C., Flourie, B., Ouarne, F., Gailing, M., Lartigue, S., Guigert, A., Bornet, F. and Galmiche, J. 1996. Digestion, excretion, and energy value of fructo oligosaccharides in healthy humans. Am. J. Clin. Nutr. 64 : 324 - 328.

Muramatsu, K. , Onodera, S. , Kikuchi, M. and Shiomi, N. 1992. The production of β-fructofuranosidase from *Bifidobacterium* spp. Biosci. Biotechnol. Biochem. 56 (9) :1451 - 1454.

Nakajima, M., Watanabe, A., Nabeya, H., Hidaka, H. and Otsuka, R. 1990. Production of high – purity fructooligosaccharide. Jpn.Patent. 2,150,289.

Nakamura, N. and Yubihara, N. 1986. Production of sugar containing fructo oligosaccharise. Jpn.Patent. 61,268,191.

Nishizawa, K. , Nakajima, M. and Nabetani, H. 2000. A forced – flow membrane reactor for transfructosylation using ceramic membrane. Biotechnol. Bioeng. 68 : 92 - 97.

Novak, M., Stanck, J. and Hollerova, I. 1996. Formation of oligofructosides during gluconate production by *Aspergillus niger*. Biotechnol. Lett. 18(2) : 211– 212.

Ohta, A. , Ohtsuki, M. , Baba, S. , Hirayama, M. and Adachi, T. 1998. Comparison of the nutritional effects of fructooligosaccharides of different sugar chain length in rats. Nutr. Research. 18(1) : 109 – 120.

Ohta, A. , Otsuki, M. , Takizawa, T. and Adachi, T. 2000. Material inhibiting lipid peroxide - increase. U.S.Patent. 6,087,345.

Okabe, M., Ohta, N. and Park, Y.S. 1993. Itaconic acid production in an air-lift bioreactor using a modified draft tube. J. Ferment. Bioeng. 76(2) : 117 - 122.

Oku, T. , Tokunaka, T. and Hosoya, N. 1984. Nondigestibility of a new sweetener " neosugar " in the rat. J. Nutr. 114 : 1574 - 1581.

Pazur, J.H. 1952. Transfructosidation reactions of an enzyme of *Aspergillus oryzae*. J. Biol. Chem. 199 : 217 - 225.

Praznik, W., Spies, T. and Hofinger, A. 1992. Fructooligosaccharides from the stems of *Triticum aestivum*. Carbohydrate Research. 235 : 231 - 238.

Riviere, J. 1977. The formation and extraction of fermentation products. In. M.O. Moss and J.E. Smith (eds.) , Industrial Application of Microbiology. pp.59 – 104. London : Thomson Litho Ltd.

Roberfroid, M., Gibson, G.R. and Delzenne, N. 1993. The biochemistry of oligofructose, a nondigestible fiber : an approach to calculate its caloric value. Nutr Reviews. 51(5) : 137 - 146.

Sayama, K., Muratsubaki, T. and Suzuki, Y. 1984. Production of slightly carious sweetening agent from beet molasses. Jpn.Patent. 59,227,269.

Shiomi, N., Yamada, J. and Izawa, M. 1979. Synthesis of several fructooligo-saccharides by asparagus fructosyltransferases. Agric. Biol. Chem. 43(11) : 2233 - 2244.

Shiomi, N. , Kido, H. and Kiriyama, S. 1985. Purification and properies of sucrose : sucrose 1F-β- D - fructosyltransferase in onion seeds. Phytochem . 24(4) : 695 - 698.

Simmen, U. , Obenland, D. , Boller, T. and Wiemken, A. 1993. Fructan synthesis in excised Barley leaves. Plant Physiol. 101 : 459 – 468.

Steyermark, A. 1951. Microdetermination of nitrogen by the Kjeldahl method. Quantitative Organic Microanalysis. pp.134–135. New York : Pergamon Press.

Stoll ,V. S. and Blanchard ,J. S. 1990. Buffer : principle and practice. In.J.N. Abelson and M.I. Simon (eds.) ,Methods in Enzymology Volumn 182 : Guide to Protein Purification. pp.24 – 37. New York : Academic Press.

Takeda , H. , Sato , K. , Kinoshita , S. and Sasaki , H. 1994. Production of 1-kestose by *Scopulariopsis brevicaulis*. J.Ferment.Bioeng. 77(4) : 386 - 389.

Takeda, H. and Kinoshita, S. 1995. Production of fructosylxylosides by *Scopulariopsis brevicaulis*. J. Ferment. Bioeng. 79(3) : 242 - 246.

Tanriseven, A. and Gokmen, F. 1999. Novel method for the production of a mixture containing fructooligosaccharides and isomaltooligosaccharides. Biotechnol. tech. 13 : 207 - 210.

Tortora, G.J. , Funke, B.R. and Case, C.L. 1992. Control of microbial growth. Microbiology. PP.167 – 189. California : The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.

Usami, S. , Ishii, T. , Kirimura, K. , Uehara, K. and Chen, J. 1991. Production of β - fructofuranosidase showing fructose-transferring activity by *Penicillium frequentans (P.glabrum)*. J.Ferment.Bioeng. 72(4) : 303 – 305.

Yamamura, M. 1988. Healthy food for promoting control of intestinal function. Jpn. Patent. 63.063.366.

Yamashita ,K., Kawai, K. and Itakura, M. 1984. Effects of fructooligosaccharides on blood glucose and serum lipids in diabetic subjects. Nutrition Research. 4 : 961 - 966.

Yatka, R.J., Richey, L.C. and Meyers, M.A. 1995. Chewing gum products using fructooligosaccharides. U.S. Patent. 5.425.961.

Yun, J. W. , Jung, K. H. , Oh, J.W. and Lee, J.H. 1990. Semibatch production of fructooligosaccharides from sucrose by immobilized cells of *Aureobasidium pullulans*. Applied Biochemistry and Biotechnology. 24/25 : 299 – 308.

Yun, J.W., Kang, S.C. and Song, S.K. 1995. Continuous production of fructo oligosaccharides from sucrose by immobilized fructosyltransferase. Biotechnol. Tech. 9(11) : 805 - 808.

Yun, J.W. 1996. Fructooligosaccharides – occurrence , preparation , and application. Enz. Microbial. Technol. 19 :107-117.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.อาหารแข็งโปเตโตเด็กซ์โตรส (Potato Dextrose Agar)

ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

มันฝรั่งหั่น	200	กรัม
เด็กซ์โตรส	20	กรัม
วุ้นผง	20	กรัม

เตรียมโดยนำมันฝรั่งมาล้างให้สะอาด ปอกเปลือกแล้วนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งน้ำหนักให้ได้ 200 กรัม ต้มในน้ำเดือดนาน 15-20 นาที กรองเอาแต่ส่วนน้ำออกมาเติมส่วนประกอบที่เหลือ ละลายให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเตรียมหัวเชื้อสปอร์งอก

ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

น้ำตาลทรายขาว	80	กรัม
สารสกัดจากยีสต์	2	กรัม
โพแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	1	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.3	กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต	0.4	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปรับค่าพีเอชเท่ากับ 7.0

3. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์

ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

น้ำตาลทรายขาว	100	กรัม
สารสกัดจากยีสต์	2	กรัม
โพแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	1	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.3	กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต	0.4	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปรับค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 (หรือแปรผันตามการทดลอง)

4.อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเหมาะสมเพื่อการผลิตฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์

ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

น้ำตาลทรายขาว	250	กรัม
สารสกัดจากยีสต์	5	กรัม
โพแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	1	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.3	กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต	1	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปรับค่าพีเอชเท่ากับ 5.0 หรือ 7.0 (หรือแปรผันตามการทดลอง)

ภาคผนวก ข
วิธีเตรียมสารเคมีที่สำคัญที่ใช้ในการทดลอง

1.สารละลายอะซิโตไนไตรเข้มข้น 78 เปอร์เซ็นต์(ปริมาตรต่อปริมาตร)

เตรียมโดยตวงอะซิโตไนไตร ปริมาตร 78 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร (เตรียมสารละลายใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง)

2. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1 นอร์มอล

ตวงกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 82.89 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 1000 มิลลิลิตร

3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 นอร์มอล

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในภาชนะพลาสติก เก็บในขวดพลาสติก ที่อุณหภูมิห้อง

4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 37 เปอร์เซ็นต์

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 370 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

5. สารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์

ละลายกรดบอริก 40 กรัม ในน้ำปลอดประจุปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

6. สารละลายตัวบ่งชี้ (indicater) ผสม

ละลายเมทธิลเรด 0.1 กรัม และเมธีลีนบลู 0.1 กรัม ในเอทธานอลเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 150 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

7. สารละลายโพแตสเซียมคลอไรด์ 2 โมลาร์

ชั่ง โพแตสเซียมคลอไรด์ 74.55 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร

8. สารละลายเอทธิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดไดโซเดียมซอลท์ (EDTA disodium)

ละลาย EDTA 6 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 80 มิลลิลิตร ปรับค่าพีเอช เท่ากับ 7.0 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

9. สารละลายฟีนอลไนโตรพรัสไซด์

ละลายฟีนอล 7 กรัม และโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ 34 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 80 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาในตู้เย็น

10. สารละลายบัฟเฟอร์ไฮโปคลอไรท์

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.48 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 70 มิลลิลิตร เติมโซเดียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต 4.98 กรัม และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 5 – 5.25 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

11. สารละลายซิเตรตฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Stoll , V.S. and Blanchard , J.S. , 1990)

11.1 กรดซิตริก เข้มข้น 0.1 โมลาร์

ชั่งกรดซิตริก 19.21 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

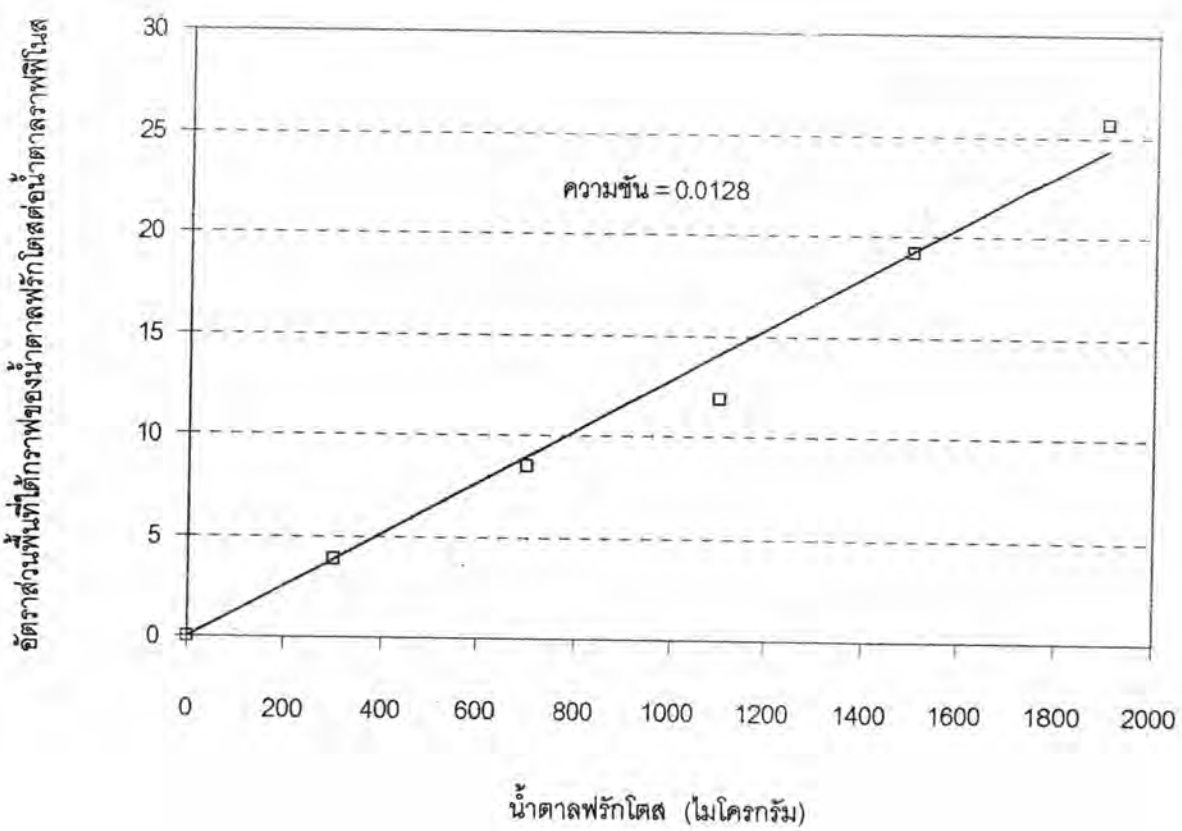
11.2 โซเดียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต เข้มข้น 0.2 โมลาร์

ชั่งโซเดียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮปตะไฮเดรต 53.65 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

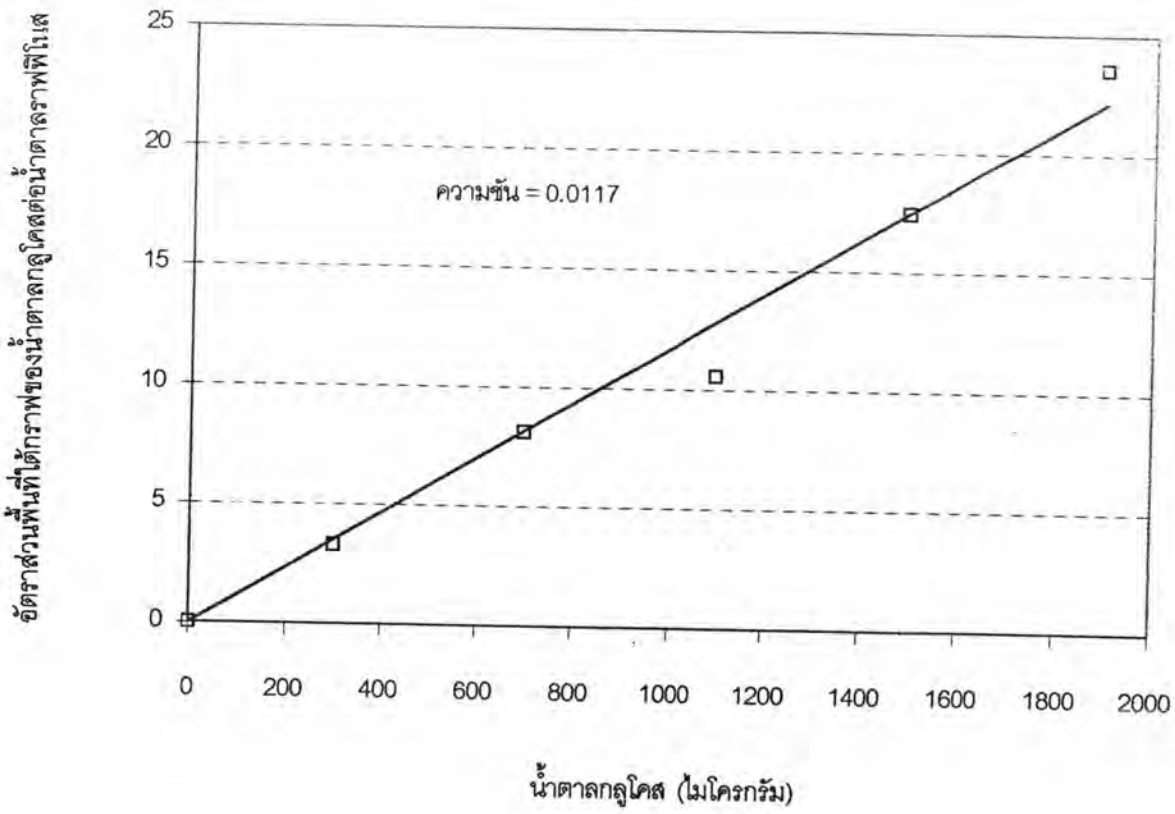
ผสมสารละลายใน ข้อ 4.1 และ 4.2 ด้วยปริมาตรต่าง ๆกัน ในปริมาตรทั้งหมด 1000 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ค่าพีเอชที่ต้องการ ดังนี้ ต้องการค่าพีเอชเท่ากับ 3.0 , 4.0 , 5.0 , 6.0 , 7.0 จะใช้ กรดซิตริก ในปริมาณ 796 , 614 , 486 , 358 , 130 มิลลิลิตร ผสมกับโซเดียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต ในปริมาณ 204 , 386 , 514 , 642 , 870 มิลลิลิตร ตามลำดับ

ภาคผนวก ค
กราฟมาตรฐาน

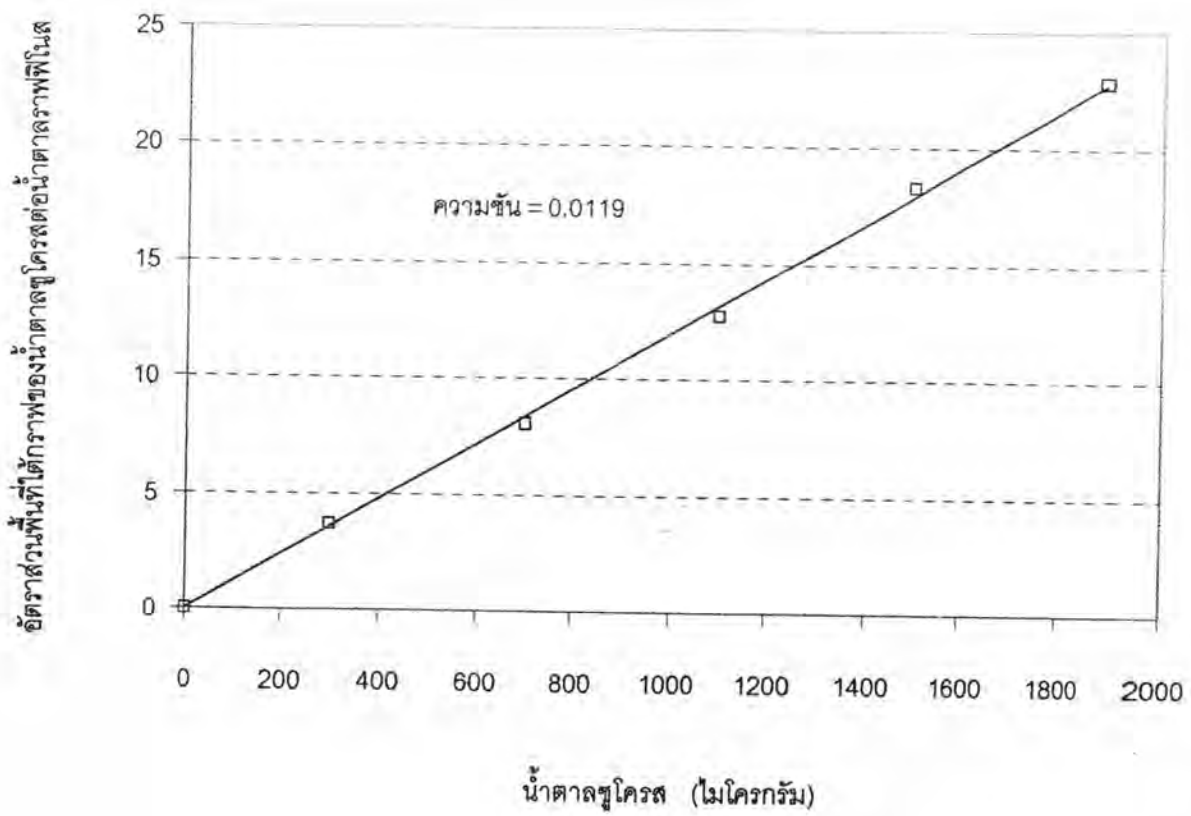
1. กราฟมาตรฐานของน้ำตาลฟรักโตส เมื่อวิเคราะห์ปริมาณด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)



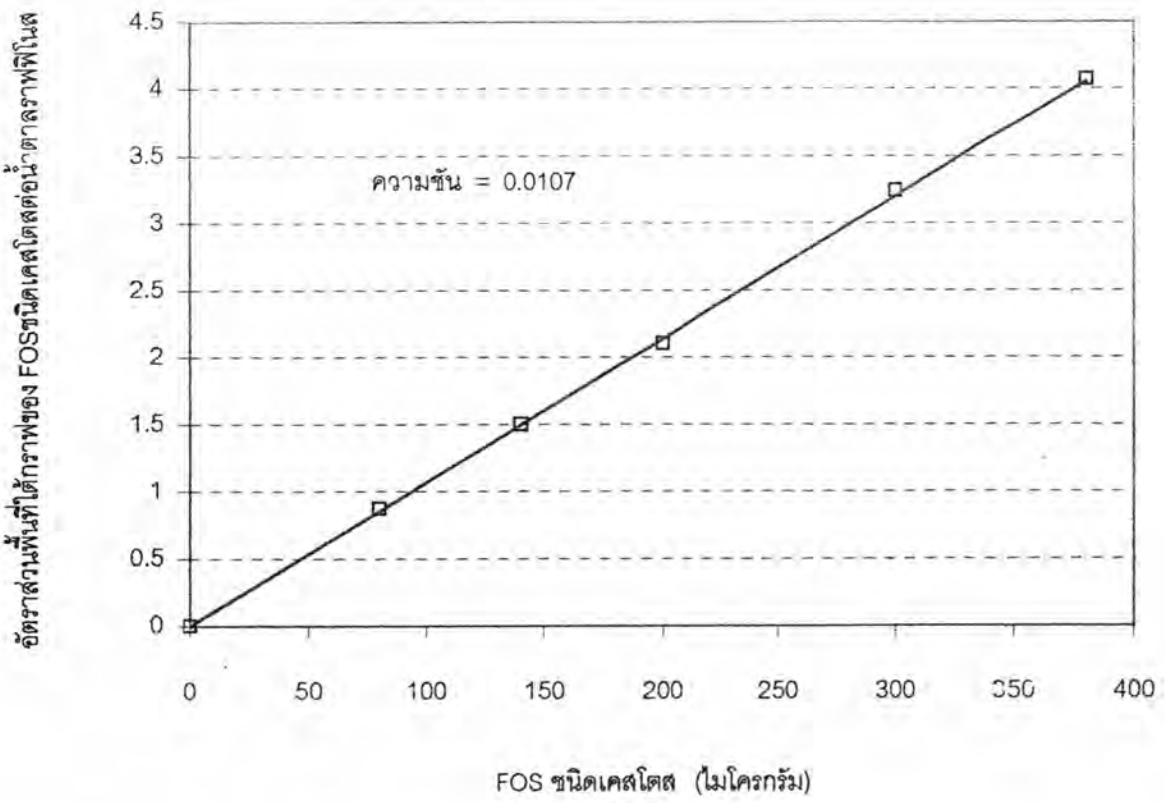
2.กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส เมื่อวิเคราะห์ปริมาณด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)



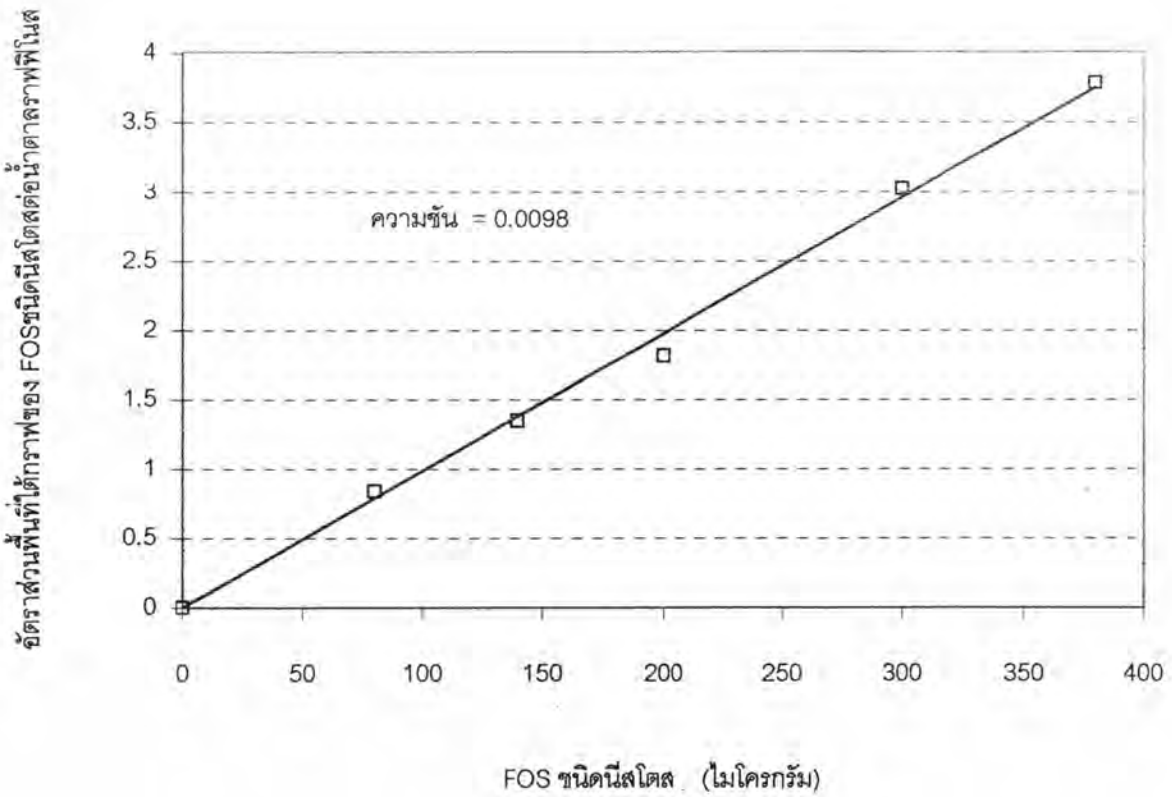
3.กราฟมาตรฐานของน้ำตาลซูโครส เมื่อวิเคราะห์ปริมาณด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)



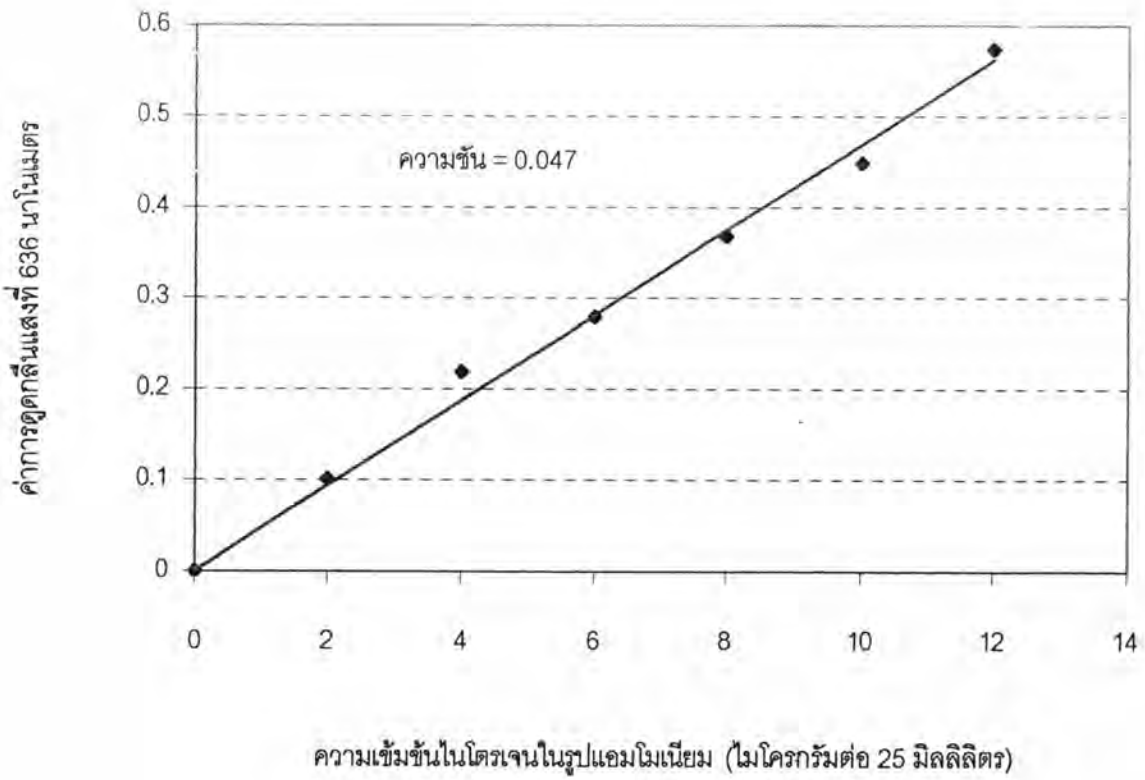
4. กราฟมาตรฐานของ FOS ชนิดเคสโตส เมื่อวิเคราะห์ปริมาณด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)



5.กราฟมาตรฐานของ FOS ชนิดนีสโตส เมื่อวิเคราะห์ปริมาณด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)



6. กราฟมาตรฐานไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียม เมื่อวิเคราะห์โดยวิธีของ Kempers (1974)



ภาคผนวก ง
วิธีการคำนวณ

1.คำนวณปริมาณ FOS และน้ำตาลชนิดต่าง ๆ โดยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

จากกราฟมาตรฐานของน้ำตาลฟรักโตส น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลซูโครส FOS ชนิดเคส-โตส FOS ชนิดนีสโตส เมื่อวิเคราะห์โดยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง โดยมีน้ำ-ตาลราฟฟิโนสเป็นสารมาตรฐานภายใน (ภาคผนวก ค 1 - 5 ตามลำดับ) สามารถคำนวณหาค่าความชันได้ นำค่าความชันที่ได้มาคำนวณหาปริมาณเคสโตส นีสโตสและน้ำตาลชนิดต่างๆ ในตัวอย่างน้ำหมักที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp. H12 ดังตัวอย่าง

$$\text{FOS ชนิดเคสโตส}^{*} \text{ (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของ FOSชนิดเคสโตสในน้ำหมักต่อน้ำตาลราฟฟิโนส} \times \text{ค่าการเจือจาง}}{\text{ความชัน}}$$

หมายเหตุ * สำหรับ FOS ชนิดนีสโตส น้ำตาลฟรักโตส น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครส จะใช้วิธีคำนวณแบบเดียวกันโดยใช้ค่าความชัน จากภาคผนวก ค5 ค1 ค2 ค3 ตามลำดับ

2.คำนวณปริมาณของอินทรีย์ไนโตรเจน เมื่อวิเคราะห์โดยวิธีของ Steyermark (1951)

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

วิธีการหาความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน

ชั่งโซเดียมไบคาร์บอเนต 0.2 กรัม ละลายในน้ำปลอดประจุ 70 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน หยดตัวบ่งชี้ผสมซึ่งมีส่วนผสมของเมทธิลเรดและเมธีลีนบลู (ภาคผนวก ข6) 3 หยด นำไปต้มใน

น้ำเดือด 3 นาที แล้วมาทำการไตเตรตขณะร้อนกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.05 นอร์มอล ที่เตรียมไว้จนสารละลายสีเขียงอ่อนเปลี่ยนเป็นสีชมพู บันทึกปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกนำมาคำนวณในสมการ ดังนี้

$$2HCl \equiv 1\ Na_2CO_3$$

ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน $= \frac{1}{2} \times \frac{\text{กรัมของโซเดียมไบคาร์บอเนต} \times 1000}{\text{มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริก} \times 36.5}$

3. คำนวณปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตในน้ำหมัก เมื่อวิเคราะห์ไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียม โดยวิธีของ Kempers (1974)

จากกราฟมาตรฐานของไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียม (ภาคผนวก ค6) ให้ค่าความชันเท่ากับ 0.047 นำความชันที่ได้ มาคำนวณหาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตในตัวอย่างน้ำหมักที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Penicillium* sp.H12 ดังนี้

$$\text{ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)} = \frac{A636 \times \text{ค่าการเจือจาง} \times 132}{\text{ความชัน} \times 5 \times 1000 \times 28}$$

28 คือ น้ำหนักโมเลกุลของธาตุไนโตรเจนในแอมโมเนียมซัลเฟต

132 คือ น้ำหนักโมเลกุลของแอมโมเนียมซัลเฟต

ประวัติผู้เขียน

นางสาววรรณา ศรีสัจจารักษ์ เกิดวันที่ 12 มิถุนายน พ.ศ. 2518 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาจากโรงเรียนจอมสุรางค์อุปถัมภ์ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา เมื่อปี พ.ศ.2535 ต่อมาสำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2539 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2540